

Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

V. Babes-Bukarest, **Chr. Barthel**-Stockholm, **A. Bau**-Bremen, **M. W. Beijerinck**-Delft, **W. Benecke**-Berlin, **Ph. Biourge**-Löwen, **A. J. Brown**-Birmingham, **M. Bücheler**-Weihenstephan, **R. Burri**-Liebefeld bei Bern, **A. Calmette**-Lille, **R. Chodat**-Genf, **A. Cluss**-Wien, **F. Czapek**-Prag, **M. Düggeli**-Zürich, **J. Effront**-Brüssel, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **C. Gorini**-Mailand, **R. Graßberger**-Wien, **A. Harden**-London, **H. A. Harding**-New York, **F. C. Harrison**-Ste. Anne de Bellevue, Canada, **F. v. Höhnel**-Wien, **J. Chr. Holm**-Kopenhagen, **F. Hueppe**-Prag, **G. v. Istvànffi**-Budapest, **Orla Jensen**-Kopenhagen, **Alfred Jörgensen**-Kopenhagen, **V. v. Klecki**-Krakau, **M. Klimmer**-Dresden, **A. Koch**-Göttingen, **R. Kolkwitz**-Steglitz-Berlin, **F. Krasser**-Prag, **W. Kruse**-Bonn, **H. van Laer**-Gent, **F. Löhnis**-Leipzig, **Ch. E. Marshall**-East Lansing, Michigan, **R. Meißner**-Weinsberg, **W. Migula**-Eisenach, **H. Molisch**-Wien, **C. Neuberg**-Berlin, **W. Palladin**-Petersburg, **P. Petit**-Nancy, **P. Pichi**-Conegliano, **E. Prior**-Wien, **O. Richter**-Wien, **E. Roux**-Paris, **K. Saito**-Tokio, **A. Schattenfroh**-Wien, **W. Seifert**-Klosterneuburg, **J. Stoklasa**-Prag, Freiherr **v. Tubeuf**-München, **W. Winkler**-Wien, **J. Wortmann**-Geisenheim, **H. Zikes**-Wien

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BAND III

BERLIN
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Schöneberger Ufer 12a
1913

Druck von E. Buchbinder (H. Duske) in Neuruppin.

Inhaltsverzeichnis.

Mutation bei Penicillium glaucum und Aspergillus niger.

Von **H. J. Waterman.**

(Aus den Laboratorien für Mikrobiologie und für organische Chemie der Technischen Hochschule in Delft.)

A. Die Ursache der Mutation.

§ I. Paraoxybenzoesäure als Kohlenstoffquelle für Aspergillus niger.

In einer früheren Mitteilung[1]) habe ich zahlreiche organische Verbindungen bezüglich deren Nährwert für Aspergillus niger miteinander verglichen. Dabei wurde gefunden, daß, je größer im allgemeinen die Verbrennungswärme der betreffenden Verbindung, desto größer das plastische Äquivalent des Kohlenstoffs ist. Hiermit steht auch in Übereinstimmung, daß Wehmer auf Kosten von Olivenöl, welche Substanz eine sehr große Verbrennungswärme besitzt (ca. 9300 Gramm Kal. pro Gramm), sehr hohe Pilzernten erzielt hat[2]).

Auch für eine aromatische Verbindung, die Paraoxybenzoesäure ($C_6H_4 \cdot OH \cdot COOH + 1$ Aq.), eine für Pilze besonders geeignete Kohlenstoffquelle, habe ich dies bestätigen können.

Die Verbrennungswärme dieser Verbindung ist nämlich dank der Anwesenheit des Benzolkernes sehr groß (5260 Gramm Kal. pro Gramm)[3]).

Demgemäß fand ich für den Kohlenstoff sehr große plastische Äquivalente: so wurde z. B. nach 45 Tagen für eine 0,3prozentige Lösung dieser Verbindung (anorg. Nahrung: Leitungswasser, 0,05 % NH_4Cl, 0,05 % KH_2PO_4, 0,02 % $MgSO_4$, Temp. = 32—33 °) ein plastisches Äquivalent von 34 % gefunden, während diese Größe für eine 2 prozentige Glukoselösung (Verbrennungswärme in Gramm-Kal. pro Gramm der Verbindung = 3750)[3]) nach 21 Tagen 31 % war.

---

[1]) H. J. Waterman, Beitrag zur Kenntnis der Kohlenstoffnahrung von Aspergillus niger.; Folia Microbiologica, Bd. 1, 1912, S. 422.

[2]) Walther Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, Leipzig 1910, S. 710 ff.

[3]) Landolt-Börnstein, Physik.-chemische Tabellen, 1912.

Auch der Verlauf des Stoffwechsels bei der Nahrung mit Paraoxybenzoesäure als einzige Kohlenstoffquelle war demjenigen der früher untersuchten organischen Verbindungen ganz analog (vgl. Tabelle I und die zugehörige Fig. 1).

Tabelle I. Paraoxybenzoesäure.
150 mg Paraoxybenzoesäure pro 50 ccm Leitungswasser, 0,15 % NH_4NO_3, 0,15 % KH_2PO_4, 0,06 % $MgSO_4$. Temp. 33 ° C.

	Nach					
	2	3	4	6	16	21
	Tagen					
Verbrauchte Quantität Paraoxybenzoesäure in %	15	81	99	100	100	100
Milligramm CO_2 bei Verbrennung der Pilzsubstanz	19	101,5	95	77,5	59,5	55,7
Plastisches Äquivalent des Kohlenstoffs	—	42	32	26	20	19
Entwicklung	+++	ziemlich stark				
Sporenbildung	spärlich	ziemlich stark	stark			

Fig. 1.
Paraoxybenzoesäure. 150 mg Paraoxybenzoesäure pro 50 ccm Leitungswasser, 0,15 % NH_4NO_3, 0,15 % KH_2PO_4, 0,06 % $MgSO_4$. Temp. 33 ° C.

Die Quantität der nicht assimilierten noch in der Nährflüssigkeit anwesenden Paraoxybenzoesäure wurde nach 2, 3, 4, 6, 16 und 21 Tagen bestimmt.

Dazu wurde die Flüssigkeit mit Äthyläther extrahiert, die erhaltene ätherische Lösung durch Erhitzen auf dem Wasserbade von Äthyläther befreit, der Rückstand in kohlensäurefreiem Wasser gelöst und mit Baryt titriert (Lackmus war hierbei Indikator). Die erhaltenen Pilzdecken wurden wie früher nach wiederholtem Waschen mit destilliertem

Wasser im Sauerstoffstrome verbrannt und die entstandene Kohlensäure gewogen.

In der Figur sieht man wieder, daß das plastische Äquivalent in der Jugend nach 2 und 3 Tagen sehr groß ist, dann rasch sinkt, um schließlich nach 16 und 21 Tagen ziemlich konstant zu bleiben. Es wird der Kohlenstoff auch bei der Nahrung mit Paraoxybenzoesäure in der Jugend im Organismus angehäuft und auch in diesem Falle ist das betreffende Zwischenprodukt Glykogen. Ich habe nämlich beobachtet, daß eine 4 Tage alte Pilzdecke unter dem Mikroskop eine starke Reaktion mit Jodium gibt, während eine unter ganz gleichen Umständen erhaltene Pilzdecke von hohem Alter (21 Tage) kaum Reaktion zeigte. Auch makroskopisch war der Unterschied schon ganz überzeugend.

Es ist auch hier wieder das Sinken des plastischen Äquivalentes des Kohlenstoffs mit der Zeit ein Maßstab für die Verarbeitung des Zwischenproduktes des Stoffwechsels, des Glykogens.

Auch die aromatische Verbindung, die Paraoxybenzoesäure, wird in derselben Weise, wie dies mit der Glukose, Lävulose, Weinsäure usw. der Fall war, in Glykogen überführt. Zahlreiche Verbindungen von sehr verschiedener Natur können also in diesen Reservestoff umgewandelt werden.

Im Anfang meiner Versuche fand ich für die Paraoxybenzoesäure große plastische Äquivalente, aus späteren Versuchen (z. B. Tabelle I) sieht man aber, daß dies nicht immer der Fall war, da wurde nach 21 Tagen nur 19 % gefunden, fast die Hälfte von dem früheren Werte. Woher diese Unregelmäßigkeiten?

Bei den früher untersuchten Verbindungen war ja die Konstanz der erhaltenen Werte für das plastische Äquivalent eins der wichtigsten Resultate des betreffenden Studiums. Die Abweichungen wurden verursacht durch einen damals noch unbekannten Mutationsvorgang (s. u.).

§ 2. Die Faktoren, welche das Auftreten der Mutation veranlassen. Die erhaltenen Mutanten.

An anderer Stelle[1]) habe ich schon mehrere Ursachen der Mutationen bei Penicillium glaucum und Aspergillus niger beschrieben. Die Anzahl derselben hat sich aber seitdem stark vermehrt und jetzt ist mir der Grund der Wirkung aller dieser Mutation verursachenden Umstände vollkommen bekannt.

---

[1]) Verslagen Kon. Akad. van Wetenschappen, Amsterdam, Wis- en Natuurk. Afd. 25. Mai 1912. S. 33.

a) Penicillium glaucum.

Borsäure. Es wurde gefunden, daß Verbindungen wie Borsäure, die meistens schon in geringen Konzentrationen einen hemmenden Einfluß auf die Entwicklung von Penicillium glaucum ausüben, in ziemlich konzentrierter Lösung Mutation verursachen. So wurde in Nährflüssigkeiten mit 2 % Glukose oder mit 2 % Rohrzucker als Kohlenstoffquelle (anorg. Nahrung: Leitungswasser, 0,05 % NH_4Cl, 0,05 % KH_2PO_4 und 0,02 % $MgSO_4$) unter der Wirkung von 0,2 % Borsäure nach ca. 14 Monaten Mutation beobachtet, dies wurde mittels Aussaat auf Platten von Malzagar bewiesen. In dieser Weise wurden sogar erblich sporenfreie Mycelien erhalten. Auch aus einem Kulturkolben mit 2 % Sorbit und 0,6 % Borsäure (anorganische Nahrung wie oben) wurden dergleichen sterile Mycelien erhalten, deren Entwicklungsschnelligkeit auf Malzagar aber bedeutend geringer als die der Hauptform war.

Diese Mutanten hatten ebenfalls wie die anderen unten beschriebenen, nicht den sonst für die Hauptform so charakteristischen Geruch.

Paraoxybenzoesäure, Salizylsäure, Trichlorakrylsäure, Tetrachlorpropionamid $CHCl_2 \cdot CCl_2 \cdot C{\lt}^{O}_{NH_2}$ und Pentachlorpropionamid $CCl_3 \cdot CCl_2 \cdot C{\lt}^{O}_{NH_2}$.

Auch diese Reihe von Verbindungen, alle zu den Narkotika gehörend, von denen einige, wegen ihrer starken narkotischen Wirkung die Geschwindigkeit der Entwicklung von Penicillium glaucum schon in sehr verdünnter Lösung beträchtlich hemmten, verursachten Mutation und die Schnelligkeit dieses Mutationsvorganges war desto größer, je stärker die Hemmung der Entwicklung erschien.

Es ist ja selbstverständlich, daß man hier eine obere Grenze der Wirkung haben muß, denn bei sehr großen Konzentrationen der betreffenden schädlichen Verbindungen wurde natürlich gar keine Entwicklung beobachtet. Die erhaltenen Mutanten waren gekennzeichnet durch eine geringere Intensität der Farbe, der geringeren Anzahl Sporen gemäß.

Galaktose und Milchzucker.

Schließlich wurden noch mehrere weiße Stellen in Kulturen (Alter: 14 Monate) mit 2 % Galaktose oder mit 2 % Milchzucker (anorg. Nahrung wie oben) beobachtet, während analoge Kulturen auf Rohrzucker oder Glukose ein normales Aussehen zeigten, so daß es wahrscheinlich war, daß unter dem Einfluß von Galaktose und Milchzucker Mutation stattgefunden hatte.

Die Bedeutung dieser Beobachtungen war erstens, daß die Ursachen der Mutation vollständig bekannt waren und zweitens, daß die Wirkung der betreffenden Faktoren keine zufällige, sondern allgemeiner Natur war. Unregelmäßigkeiten wurden nicht gefunden. Weiter wußten wir mit Bestimmtheit, daß mit der unter dem Einfluß der Wirkung der Borsäure und der Narkotika erhaltenen Mutation immer eine Hemmung der Entwicklung von Penicillium glaucum verbunden gewesen war.

b) Aspergillus niger.

Die verschiedenen Faktoren, die bei diesem Pilze Mutation verursachen, können vorläufig in vier Klassen eingeteilt werden:

1. Gifte wie Kupfersulfat und Borsäure.
2. Narkotisch wirksame Stoffe wie Paraoxybenzoesäure. Salizylsäure, Trichlorakrylsäure und Tetrachlorpropionamid.
3. Nahrungsstoffe wie Galaktose und damit verwandte Polysaccharide, als einzige Kohlenstoffquelle (Laktose, Raffinose [Melibiose]).
4. Nahrungsstoffe wie Glutarsäure, l. Weinsäure, Antiweinsäure, Rhamnose als einzige Kohlenstoffquelle.

Der Grund der Wirkung von allen diesen Mutation veranlassenden Faktoren ist wiederum derselbe wie bei Penicillium glaucum. Alle hemmen die Entwicklung von Aspergillus niger in hohem Grade. Borsäure und Kupfersulfat üben in geringer Konzentration wohl eine hemmende Wirkung auf Aspergillus niger aus, doch wird keine Mutation verursacht; in sehr hohen Konzentrationen dieser Gifte, wenn die Entwicklung nur nach geraumer Zeit nach der Impfung anfängt, tritt Mutation auf.

Die Oxybenzoesäuren und besonders die Akrylsäurederivate sind Verbindungen, die eine hemmende Wirkung ausüben. Weiter habe ich beobachtet, daß Galaktose sehr viel langsamer als verwandte Verbindungen, wie andere Hexosen: Glukose, Lävulose und Mannose, assimiliert wird und daß dies gleichfalls mit Laktose und Melibiose stattfindet. Dies gilt auch für die Glutarsäure, l. Weinsäure, Antiweinsäure usw.

Stellen wir z. B. eine Nährflüssigkeit mit 2% Laktose als Kohlenstoffquelle her und impfen wir mit Aspergillus niger, so gibt es im Anfang fast keine Entwicklung. Schließlich ist dies doch der Fall, aber dann hat gleichzeitig Mutation stattgefunden. Dieselben Beobachtungen habe ich für die Glutarsäure, l. und Anti-Weinsäure gemacht.

Ebenso wie es bei Penicillium glaucum der Fall war, ist auch hier der Grund der Wirkung der Faktoren, die Mutation verursachen, allgemeiner Natur. Unregelmäßigkeiten wurden auch hier nicht beobachtet.

Endlich muß ich noch die Aufmerksamkeit darauf lenken, daß fast dieselben Faktoren, die Mutation bei Aspergillus niger verursachen, dies auch bei Penicillium glaucum tun.

In der letzten Zeit beginnt man bei gewissen Gruppen von Bakterien die Mutationsbedingungen mehr und mehr kennen zu lernen[1]).

Es erscheint mir jetzt erwünscht zu untersuchen, ob auch hier eine analoge Hemmung der Entwicklung, wie bei den genannten Pilzen, maßgebend sein wird.

Durch Isolierung auf Malzagar wurden die verschiedenen Mutanten rein erhalten. Sie hatten immer weniger Sporen als die Hauptform. Von ihrer Reinheit überzeugte ich mich in einigen Fällen durch Ausgehen von einer einzigen Konidie. Auf diese Weise wurden nämlich Stämme erhalten, die dem Ausgangsmaterial gleich waren. Zwischen dem Myzelium und den dazugehörigen Konidien war, wie man erwarten konnte, kein Unterschied. Infolge der geringeren Anzahl Konidien der erhaltenen Mutanten war das Auftreten der Mutation sehr leicht zu beobachten. In der Photographie (Taf. I) sieht man deutlich die stattgefundene Mutation in Kulturen auf 2 % Galaktose. Neben der ursprünglichen Form mit schwarzen Sporen sind in diesen Kulturgefäßen noch eine braune und eine weiße Form zu beobachten (Fig. II A, II C u. II D). Zum Vergleich sieht man dieselbe Stammform, mit welcher diese Kulturen geimpft waren, auf einer 2 prozentigen Glukosenährlösung von übrigens derselben Zusammensetzung unter gleichen Umständen kultiviert (Fig. II B).

Das normale schwarze Aussehen dieser Kultur ist besonders verschieden von der Galaktosepilzdecke.

---

[1]) Vgl. z. B.: W. J. Penfold, Variations of the fermentation properties of the B. typhosus. British Medical Journal, 1909; Variability in the gas-forming power of intestinal bacteria. Proc. of the Royal Soc. of Medicine, 1911; Studies in bacterial variation with special reference to the chemical functions of the members of the typhoid-coli group. The journal of hygiene, Vol. XI, April 1911; Further experiments on variability in the gas-forming power of intestinal bacteria. The journal of hygiene, Vol. XI, January 1912; On the specificity of bacterial mutation. The journal of hygiene, Vol. XII, June 1912.

Reiner Müller, Bakterienmutationen. Zeitschr. f. induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. VIII, 1912.

Baerthlein, Weitere Untersuchungen bei Bakterien. Deutsche medizin. Wochenschr. 1912, Nr. 31.

Die drei auf Galaktose beobachteten Formen wurden auf Malzagar isoliert. Die schwarze Form war identisch mit der Hauptform geblieben (I). Die braune Form (II) hatte auf Malzagar ein weniger charakteristisches braunes Aussehen, aber hatte deutlich weniger Konidien als Form I, während die dritte weiße Form III auf Malzagar noch weniger Konidien hatte.

Sowohl die Stammform I, wie die beiden anderen Formen II und III mutieren auf Galaktose: I gibt dabei neben I noch II und III (s. oben), während aus II neben der braunen Form noch die schwarze und weiße entstehen. III gibt wiederum III, II und I.

Um also auf diese Weise durch Kultivieren auf Galaktose eine Form aus einer der beiden anderen zu erhalten, scheint es gleichgültig, von welcher Form man ausgeht; eine interessante Regelmäßigkeit! Dieselben Kulturumstände, die Mutation bei Form I verursachten, wobei z. T. III entstand, führten die letzte Form teilweise in die schwarze Form (I) über. Weiter beobachtete ich, daß auf diesen Galaktosenährflüssigkeiten diejenige Form, die am meisten mit der Form, mit welcher man geimpft hat, verwandt ist, zu einem höheren Prozentgehalt sich in der Pilzdecke vorfinden wird als eine andere Form, die ferner von der erstgenannten Form steht.

Prof. Beijerinck hatte schon früher bei B. prodigiosus analoge Beobachtungen gemacht[1]).

Wie ich schon oben bemerkt habe, wird die Galaktose nur sehr langsam von Aspergillus niger assimiliert. Form II und III sind aber imstande, diese Kohlenstoffquelle rascher zu benutzen, obgleich im Anfange der Entwicklung die Schnelligkeit der Assimilation etwas geringer ist als bei der Hauptform. (Vgl. Tabelle II.)

Alle erhaltenen Mutanten bleiben beim Kultivieren auf normalen Kulturmedien (z. B. Malzagar) konstant. Einige kultiviere ich schon durch 1 bis 2 Jahre. Einige der merkwürdigsten habe ich einem näheren Studium unterworfen. Dies sind neben der Stammform meiner Mutanten, zwei beim Kultivieren auf Galaktose entstandene Formen (II und III), eine braunviolette unter dem Einfluß von Borsäure erhaltene Mutante (IV) und eine auf Glutarsäure entstandene, auf Malzagar braunschwarze Form (V).

Bis heute ist man gewohnt die Mutanten nur in qualitativer Hinsicht miteinander zu vergleichen. Als erste Orientierung genügt dies

---

[1]) M. W. Beijerinck, Mutation bei Mikroben, Folia microbiologica, Holländische Beiträge zur gesamten Mikrobiologie, Bd. I, 1912, S. 40, 44, 94.

meistens wohl, wenn auch nicht immer, für einen tieferen Einblick in das Wesen der Mutation ist diese qualitative Methode ungenügend.

Schon Prof. Beijerinck[1]) hat darauf die Aufmerksamkeit gelenkt gelegentlich der Beschreibung der Farbmutanten von B. prodigiosus.

Es war also erwünscht ein oder mehrere quantitative Merkmale zu wählen, um ein etwas eingreifenderes Studium der Mutation zu machen.

Aus praktischen Erwägungen habe ich dazu das Element Kohlenstoff gewählt und die Größe des plastischen resp. Atmungsäquivalentes des Kohlenstoffs für bestimmte Zeiten festgesetzt.

Tabelle II. Aspergillus niger. Galaktose als Kohlenstoffquelle. 50 ccm Leitungswasser, 2% Galaktose (wasserfrei), 0,15% NH_4NO_3, 0,15% KH_2PO_4, 0,06% $MgSO_4$. Temp. 33—34° C.

	Nach								
	8			15			25		
	Tagen								
	Form			Form			Form		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Verbrauchte Quantität Galaktose in %	17—18%	—	—	46%	32%	23%	88%	96—97%	100%
Erhaltene Trockensubstanz in Milligramm	50	—	—	148,5	89	62	292	316,5	270

B. Das Studium des Stoffwechsels der erhaltenen Mutanten.

§ I. Paraoxybenzoesäure als Kohlenstoffquelle.

Durch die Bestimmung des plastischen Äquivalentes des Kohlenstoffs beim Kultivieren auf Paraoxybenzoesäure habe ich festgestellt, daß die zwei unter dem Einfluß von Galaktose erhaltenen Mutanten in ihrem Stoffwechsel sehr von der Stammform verschieden sind.

Die Resultate findet man in Tabelle III.

Man sieht aus der Tabelle, wie der Stoffwechsel von der Natur der benutzten Form abhängig ist. Die Pilzernte ist bei der Stammform fast zweimal so groß als bei Form III.

[1]) M. W. Beijerinck, a. a. O. S. 25.

Tabelle III.
Nährflüssigkeit: 50 ccm Leitungswasser, 0,05 % NH_4Cl, 0,05 % KH_2PO_4, 0,02 % $MgSO_4$, 0.3 % Paraoxybenzoesäure ($C_6H_4 \cdot OH \cdot COOH + 1$ Aq.). Temp. 32—33°.

	Stammform . . . (I)	Form II	Form III
Plastisches Äquivalent des Kohlenstoffs nach 21 Tagen	29 %	18 %	15 %
	28 %	18 %	16 %

Die ausgeatmete Menge Kohlensäure ist demgemäß bei Form III viel größer (Atmungsäquivalent nach 21 Tagen: 100 % — 15 % = 85 %), als bei Form I (Atmungsäquivalent: 100 % — 28 % = 72 %).

Jetzt war auch die Ursache der in A. § 1 beschriebenen Verminderung des plastischen Äquivalentes beim Kultivieren auf Paraoxybenzoesäure klar geworden und mußte offenbar der narkotischen Wirkung dieser Verbindung zugeschrieben werden[1]).

Übrigens waren diese Versuche für einen genauen Vergleich der erhaltenen Mutanten mit der Stammform nicht einwandfrei wegen der genannten schädlichen Wirkung der Paraoxybenzoesäure.

Dazu war es nötig eine Nährflüssigkeit zu wählen, auf der keine Mutation stattfindet. Dies ist der Fall beim Gebrauch von Glukose als Kohlenstoffquelle und von den später zu nennenden Verbindungen als anorganische Nahrung.

§ 2. Studium des Stoffwechsels mehrerer Formen von Aspergillus niger beim Gebrauch von Glukose als Kohlenstoffquelle.

Es war an erster Stelle erwünscht zu wissen, ob die unter dem Einfluß verschiedener Faktoren erhaltenen Mutanten in ihrem Stoffwechsel auch bedeutend voneinander verschieden seien.

Wäre dies tatsächlich der Fall, so sollte es besser sein, fortan bei Aspergillus niger nicht mehr von Mutation, sondern von fluktuierenden Änderungen zu reden, denn man könne dann erwarten, daß nicht nur die isolierten, sondern jede noch zu erhaltende Mutante von irgendwelcher anderen verschieden sein solle.

[1]) Vgl. J. Böeseken und H. J. Waterman, Verslagen Kon. Akad. van Wetenschappen, Amsterdam, Wis- en Natuurkundige Afd. 1911, S. 552; H. J. Waterman, Dissertation, Delft 1913.

Tabelle

Nährflüssigkeit: 50 ccm Leitungswasser, 2 % Glukose, 0,15 % Ammoniumnitrat, 0,15 %

Form	Nach 1	3			
	Entwicklung	Entwicklung	Sporenbildung	Entwicklung	Sporenbildung
Stammform I	+	+++++	ziemlich viele Sporen		viele Sporen
Galaktoseform a II	+	id	id		id
„ b III	+	id	id		ziemlich viele Sporen
Borsäureform IV	?	++++	keine Sporen	++++ ++	wenige Sporen
Glutarsäureform V	+	++++++	wenige Sporen		ziemlich viele Sporen
Kaliumbichromatform a (Aspergillus cinnamomeus Schiemann)	+	id	ziemlich viele Sporen		viele Sporen
Kaliumbichromatform b (Aspergillus fuscus Schiemann)	+	id	id		viele Sporen

Tabelle

Kulturflüssigkeit und Versuchs-

Form	Nach 2		3	
	Entwicklung	Sporenbildung	Entwicklung	Sporenbildung
Stammform meiner Mutanten (I). .	++++	die Sporenbildung fängt an	++++++	ziemlich viele Sporen
„ anderer Herkunft . . .	+++			id
„ der Mutanten von Frl. Schiemann	++++			id
Aspergillus fuscus	++++			viele Sporen
„ cinnamomeus . .	++++			id

IV.

Monokaliumphosphat, 0,065 % Magnesiumsulfat (wasserfrei). Temperatur: 33° C.

	12				19 Tagen		
Farbe der Pilzdecke	Verbrauchte Quantität Glukose in %	Trockensubstanz mg	CO_2 bei Verbrennung der Pilzsubstanz mg	Plastisches Äquivalent des Kohlenstoffs in %	Trockensubstanz mg	CO_2 bei Verbrennung der Pilzsubstanz mg	Plastisches Äquivalent des Kohlenstoffs in %
schwarz	100	339	599	41	320	588	40
id		251	442	30	228	408	28
schwarz, viele weiße Stellen		170	280	19	152	246	17
braunviolett		269	449	30,5	244,5	437	30
schwarz		212	348,5	24	159	260	18
zimtfarbig		302	516,5	35	300	511	35
dunkelbraun		327	578	39,5	322,5	568,5	39

V.

umstände wie in Tabelle IV.

4			7				16 Tagen	
Entwicklung	Sporenbildung	Farbe der Pilzdecke	Verbrauchte Glukose in %	Trockensubstanz mg	CO_2 bei Verbrennung der Pilzsubstanz mg	Plastisches Äquivalent in %	Trockensubstanz mg	Plastisches Äquivalent in %
++++ ++	viele Sporen	schwarz	100	361,5	635,5	43,5	332	40,5
		id		386	678	46	352	43
		id		354	634	43,5	328	40,5
		dunkelbraun		372	654	44,5	321	40
		zimtfarbig		358,349	—	43,5	311,5	38

Das erblich verschiedene Aussehen der meisten Mutanten machte diese Vermutung schon wahrscheinlich; durch das Studium des Stoffwechsels wurde bewiesen, daß in der Tat alle Mutanten verschieden waren.

Die Resultate der betreffenden Versuche findet man in Tabelle IV.

Man sieht, daß Form V, die in ihrem Aussehen nur so wenig von I verschieden war, daß ich selbst einen Augenblick darüber im Zweifel war, ob ich wirklich eine Mutante isoliert hatte, in ihrem Stoffwechsel von der Stammform sehr verschieden ist. Ferner beobachtet man, daß die von Frl. Schiemann in Berlin unter dem Einfluß von Kaliumbichromat erhaltenen Mutanten[1]) hohe plastische Äquivalente zeigen, die nur wenig von demjenigen meiner Stammform verschieden sind. Frl. Schiemann, die so freundlich war, mir diese Mutanten zu übersenden, bringe ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank.

Besonders merkwürdig ist es, daß das plastische Äquivalent des Kohlenstoffs der beiden farbigen Mutanten von Frl. Schiemann auch nur sehr wenig von demjenigen der dazu gehörigen Stammform verschieden ist (vergl. Tab. V).

Gleichzeitig habe ich feststellen können, daß das plastische Äquivalent von drei untersuchten Stammformen von Aspergillus niger ungefähr dasselbe ist. Nur dasjenige der Stammform anderer Herkunft ist etwas größer. Man sieht also, daß man in der Größe des plastischen Äquivalentes des Kohlenstoffs ein einfaches festes Merkmal zur Beurteilung der Mutation findet.

C. Zusammenfassung.

1. Mutation tritt bei Penicillium glaucum auf unter dem Einfluß von Faktoren, welche die Entwicklung hemmen.

So wurde z. B. unter der Wirkung von 0,2 % und 0,6 % Borsäure in verschiedenen Kulturmedien Mutation beobachtet; in dieser Weise wurden sogar sporenfreie Myzelien erhalten.

Andere Mutanten, die von der Stammform ebenfalls durch den Verlust ihrer Sporen, wenn auch nicht von allen, verschieden waren, und welche übrigens ebenso wie das sterile Myzelium keinen charakteristischen Geruch mehr hatten, wurden unter der Wirkung von Narkotika, wie Paraoxybenzoesäure, Trichlorakrylsäure, Tetrachlorpropionamid und Pentachlorpropionamid erhalten. Vermutlich mutiert dieser Pilz auch beim Kultivieren mit Galaktose oder Milchzucker als Kohlenstoffquelle.

[1]) Schiemann, Zeitschr. f. induktive Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. VIII, 1912. Heft 1 u. 2, S. 1.

2. Das Nichtentstehen von Mutanten unter normalen Versuchsumständen einerseits, das Auftreten von Mutation unter dem Einfluß von bekannten schädlichen Faktoren anderseits beweist, daß die Ursache der Mutation in der Hemmung der Entwicklung des Organismus zu suchen ist.

3. Alle Faktoren, die Mutation bei Penicillium glaucum verursachen, tun dies auch bei Aspergillus niger. Die Aspergillus niger-Mutanten unterscheiden sich meistens von der Stammform durch eine geringere Anzahl Sporen und durch eine weniger intensive Farbe.

Aspergillus niger mutierte unter dem Einfluß von:

a) Giften wie Kupfersulfat und Borsäure.

b) Narkotika wie Paraoxybenzoesäure, Salizylsäure usw.

c) 1. Kulturmedien mit Galaktose oder die Galaktosegruppe enthaltenden Polysacchariden als einziger Kohlenstoffquelle.

   2. Kulturmedien mit Glutarsäure, l. Weinsäure, Antiweinsäure, Rhamnose.

Auch bei Aspergillus niger ist die beschriebene Hemmung der Entwicklung Ursache der Mutation.

4. Die zwei auf Galaktose aus der Stammform entstandenen, von mir isolierten Mutanten (II und III) lieferten bei neuer Aussaat auf Kulturmedien mit diesem Zucker als Kohlenstoffquelle neben der betreffenden Mutante noch zwei andere, die Stammform und die andere Galaktosemutante. Hierbei wurde beobachtet, daß diejenige Form, die am meisten mit der Form, mit welcher man geimpft hat, verwandt ist, sich zu einem höheren Prozentgehalt in der resultierenden Pilzdecke vorfinden wird als irgendwelche andere Form.

Form II und besonders III assimilierten die Galaktose rascher als die Stammform (I).

5. Für ein eingehenderes Studium der Mutation war es aber notwendig, quantitative Merkmale zu betrachten. Dazu wurde das Element Kohlenstoff gewählt und die Größe des plastischen resp. Atmungsäquivalentes des Kohlenstoffs für bestimmte Zeiten festgesetzt.

Dabei wurde an erster Stelle beobachtet, daß auf Nährlösungen mit 0,3% Paraoxybenzoesäure als Kohlenstoffquelle das plastische Äquivalent nach 21 Tagen bei Form I 28%, bei II 18% und bei III nur 15% betrug.

Die früher erhaltenen wechselnden Größen für das plastische Äquivalent des Kohlenstoffs beim Kultivieren auf Paraoxybenzoesäure fanden hierdurch eine einfache Erklärung.

Im Einklang mit ihrer großen Verbrennungswärme war die Paraoxybenzoesäure imstande, sehr hohe Ernten zu liefern, aber die unter dem Einfluß dieses Narkotikums entstandene Mutation war Ursache der Inkonstanz und des Sinkens dieser Ernte bei wiederholter Überimpfung.

6. Die Bestimmung der plastischen resp. der Atmungsäquivalente des Kohlenstoffs mußte daher für den genannten Zweck auf Nährflüssigkeiten bestimmt werden, auf welcher keine Mutation stattfindet. Hierzu wurde Glukose als einzige Kohlenstoffquelle benutzt. Konnte das erblich verschiedene Aussehen der meisten Mutanten schon darauf hinweisen, daß alle auch in ihrem Stoffwechsel verschieden seien, durch die Bestimmung des plastischen Äquivalentes wurde diese Vermutung vollkommen bestätigt.

Deshalb wäre es besser, bei Aspergillus niger nicht mehr von Mutation zu reden, denn man hätte hier mit fluktuierenden Änderungen zu rechnen, weil man erwarten kann, daß noch jede zu erhaltende Mutante von irgendwelcher anderen verschieden sein würde.

7. Eine interessante Tatsache war noch, daß die von Frl. Schiemann unter dem Einfluß von Kaliumbichromat erhaltenen Mutanten sehr hohe plastische Äquivalente hatten, deren Größe nur wenig von derjenigen der Stammform verschieden war.

8. Schließlich beobachtete ich noch, daß drei in verschiedener Weise aus der Natur isolierte Stämme fast gleich große plastische Äquivalente hatten.

Bald hoffe ich, die betreffenden Untersuchungen auch auf andere Organismen anzuwenden.

Tafelerklärung zu Tafel I.

Mutation bei Aspergillus niger.

Von links nach rechts: Fig. II A Aspergillus niger auf 2 % Galaktose, Form mit schwarzen Sporen; Fig. II B auf 2 % Glukose, Stammform; Fig. II C auf 2 % Galaktose, braune Form; Fig. II D auf 2 % Galaktose, weiße Form.

Über Silikatzersetzung durch Bodenbakterien und Hefen.

2. Mitteilung.

Von **K. Bassalik.**

(Aus dem botanischen Institut der Universität Basel.)

In der vorliegenden Arbeit, die eine Fortsetzung und Erweiterung meiner in dieser Zeitschrift (Bd. II, S. 1—32) erschienenen Publikation bildet, habe ich mich mit der Einwirkung hauptsächlich des Bacillus extorquens, daneben, wenn auch in geringerem Maße, mit jener von Nitritbildnern, Buttersäurebakterien und Hefe auf zwölf der verbreitetsten Silikate und auf Apatit befaßt.

Die Versuchsmethode war, mit einer Ausnahme, dieselbe wie in der erwähnten Publikation. Nur habe ich, um die Resultate sicherzustellen, mehr Kontrollversuche ausgeführt.

I. Die Nährlösungen[1]).

Um stete Wiederholungen zu vermeiden, gebe ich nachstehend die Zusammensetzung der verwendeten Lösungen in den verschiedenen Versuchsserien, nach römischen Ziffern geordnet, die später in den Tabellen oder im Text stets der nun folgenden Aufzählung entsprechen werden.

Es bedeuten also:

I eine Kontrollserie mit je 40 ccm destilliertem Wasser.

II eine Kontrollserie mit je 40 ccm unter Schütteln mit Kohlendioxyd gesättigtem Wasser (bei Zimmertemperatur).

III eine sterile Kontrolle mit je 40 ccm Lösung von folgender Zusammensetzung:

0,2 % oxalsaures Ammon,
0,025 % phosphorsaures Ammon,
0,025 % schwefelsaures Ammon in zweifach destilliertem Wasser.

[1]) Alle zur Verwendung gelangten Chemikalien stammten von E. Merck, Darmstadt.

IV eine Lösung von gleicher Zusammensetzung wie III, mit Zusatz von der dem Mineral gleichen Gewichtsmenge kohlensauren Ammons.

Die Lösung wurde ebensolange mit dem Mineralpulver wie Serie III beim Sterilisieren gekocht; nach dem Erkalten wurde die dem abgewogenen Mineralpulver gleiche Gewichtsmenge kohlensauren Ammons zugesetzt, von neuem 20 Min. lang gekocht; und hierauf mit Oxalsäure neutralisiert. Mit dieser Operation wurde eine Nachahmung des Neutralisierens mittels Oxalsäure der fortwährend alkalisch werdenden Nährlösung in den Bakterienkulturen der Serien V und VI versucht; insbesondere sollte damit eine etwaige Einwirkung der in den Serien V und VI zur Neutralisation fortlaufend zugesetzten Oxalsäure sowie des bei der Verarbeitung des oxalsauren Ammons durch den Bacillus extorquens entstehenden kohlensauren Ammons auf die Mineralpulver verfolgt und festgestellt werden.

Va, b und c sind Parallelserien mit je 40 ccm Nährlösung pro Versuchsgefäß von folgender Zusammensetzung:

0,2 % oxalsaures Ammon,
0,025 % phosphorsaures Ammon,
0,025 % schwefelsaures Ammon in zweifach destilliertem Wasser (wie Serie III).

Beimpft wurden diese Serien, die nicht zu gleicher Zeit angesetzt worden waren, mit einer Reinkultur von Bacillus extorquens. Im Laufe der Versuche erhielten alle Versuchsgefäße der Serie a noch je 10 ccm einer sterilen 0,2 prozentigen Lösung von oxalsaurem Ammon.

Außerdem wurde in allen Versuchskölbchen der drei Parallelreihen das fortwährend verarbeitete Oxalat durch Oxalsäuregaben ersetzt; die einzelnen Säuregaben schwankten je nach dem Grad der entstandenen Alkalinität, zwischen 0,01—0,08 g, meistens jedoch betrugen sie 0,03 g. Jeder Versuch wurde abgebrochen, sobald der Oxalsäureverbrauch, auf wasserfreie Oxalsäure berechnet, die gleiche Gewichtsmenge erreichte wie das zum Versuch gegebene Mineralpulver. Auf diese Weise hoffte man eine Proportionalität zwischen zersetztem Mineral und ausgeatmetem Kohlendioxyd — die Menge des entstehenden Kohlendioxyds bei Verarbeitung einer bestimmten Menge Oxalat durch den Bacillus extorquens war durch andere Versuche festgestellt worden — ohne Rücksicht auf die Versuchsdauer, zu ermitteln.

VI ist eine Nährlösung, bestehend aus:

0,2 % oxalsaurem Ammon,

0,01 % phosphorsaurem Ammon,

0,01 % schwefelsaurem Ammon in zweifach destilliertem Wasser, mit Bacillus extorquens beimpft, wobei im Laufe des Versuches die Lösung dreimal erneuert worden war.

VII ist eine Nährlösung für Nitritbildner, bestehend aus:

0,01 % kohlensaurem Ammon,

0,01 % phosphorsaurem Ammon,

0,01 % schwefelsaurem Ammon in zweifach destilliertem Wasser, in jedem Versuchsgefäß je 40 ccm.

Diese Serie wurde mit Nitrosomonas europaea Winogradski, aus dreifacher Überimpfung in Winogradskische Lösung gewonnen, beimpft. Je nach Verbrauch des Ammons wurde dieses in der Form von kohlensaurem Ammon in den einzelnen Kölbchen ersetzt.

VIII ist eine Serie mit folgender Nährlösung:

3 % Dextrose,

0,01 % Natriumdiphosphat,

0,01 % Natriumsulfat in zweifach destilliertem Wasser.

In jedes Kölbchen wurden je 150 ccm obiger Lösung gegeben. Beimpft wurde aus einer mehrmals überimpften Anreicherungskultur des Clostridium Pasteurianum Winogradski.

IX ist eine Nährlösung von:

3 % Dextrose,

0,05 % Asparagin,

0,01 % phosphorsaurem Ammon,

0,01 % schwefelsaurem Ammon in zweifach destilliertem Wasser.

In jedes Kölbchen wurden je 150 ccm der Nährlösung gegeben und mit einer Agarreinkultur einer Bierhefe beimpft. Die Kölbchen dieser Serie verblieben während der ganzen Versuchsdauer im Thermostaten bei 28°.

2. Die Kulturen.

Alle Kulturen und Kontrollen, mit Ausnahme derjenigen der Serie VI, wurden in 200, 250 und 300 ccm fassenden Erlenmeyerkölbchen von Jenaer Glas ausgeführt.

Es erschien aber wünschenswert, wenigstens in einer Versuchsreihe die natürlichen Verhältnisse im Boden, wo das aus den Mineralbestandteilen Gelöste entweder von den Pflanzen aufgenommen, durch Adsorption gebunden oder durch Sickerwässer fortgeführt wird, so weit als möglich nachzuahmen. Es mußte mittels einer zweckentsprechenden Versuchsanordnung danach getrachtet werden, um mindestens periodisch das aus dem Mineral Gelöste aus den Kulturen abzuführen, mit gleichzeitiger Vermeidung auch nur der geringsten Verluste an ungelöstem Mineralpulver. Ich beabsichtigte daher die Kulturen in passenden Gefäßen mit Diffusionsmembranen als Boden auszuführen. Auf den Rat von Prof. A. Fischer jedoch wählte ich Goochtiegel als Kulturgefäße, weil dadurch nicht nur der Zweck erreicht, sondern außerdem noch jeder Fehler in der Gewichtsbestimmung bei der Wiederwägung des Mineralpulvers nach Ablauf der Versuchsdauer völlig ausgeschaltet wurde, was auch mehrere blinde Vorversuche mit verschiedenen Mineralpulvern einwandfrei bewiesen haben.

Ein Nachteil war jedoch mit dieser Serie gegenüber den in Erlenmeyerkolben ausgeführten verknüpft: Das Mineralpulver war nämlich in den Erlenmeyerkolben, je nach deren Größe, auf einer 3400 bis 6100 qmm betragenden Fläche ausgebreitet, wogegen diese Fläche in den Goochtiegeln nur ca. 610 qmm betrug. Dadurch konnten die Bakterien weniger stark das Mineralpulver durchsetzen und die einzelnen Partikel umhüllen als in den Erlenmeyerkolben, und daher konnte auch der Lösungseffekt kein so großer sein wie er es bei einer fünf- bis zehnfach größeren Fläche ohne Zweifel gewesen sein würde.

Die als Kulturgefäße für diese VI. Serie verwendeten Goochtiegel von Meißner Porzellan besaßen einen Inhalt von 30 ccm. Die Filter bestanden aus in konzentrierter Salzsäure digeriertem Asbest und gestatteten völlig klare Filtrate. Die derart vorbereiteten Goochtiegel wurden gelinde geglüht, gewogen, hierauf mit einer abgewogenen Menge Mineralpulver[1]) beschickt und wiederum bis zur Gewichtskonstanz gelinde erhitzt. Hierauf wurden die Tiegel in passende 50 ccm-Bechergläser von Jenaer Glas, von 70 mm Höhe, die vorher sterilisiert und

---

[1]) Schon hier will ich bemerken, da dies später in den Tabellen sich nicht gut anbringen ließe, daß ein genau wie die anderen präparierter Goochtiegel ohne Mineralpulverzusatz beimpft wurde und als Kontrolle für das Verhalten der Bakterien gegenüber dem Asbest diente. Das Wachstum der Bakterien war in diesem Tiegel schwach, und nach Ablauf einer Versuchsdauer von 118 Tagen wies der Tiegel ein Mindergewicht von 1,6 mg auf, was die Unangreifbarkeit des Asbests seitens der Bakterien in dieser Versuchsreihe bewies.

mit Nährlösung gefüllt waren, bis zu ca. $^4/_5$ ihrer Höhe eingesenkt, bis aufs gleiche Niveau mit Nährlösung gefüllt und mit einer Reinkultur des Bacillus extorquens beimpft, bedeckt und bei Zimmertemperatur in einem Schrank belassen. Während der Kulturdauer wurde die Lösung in den Bechergläsern dreimal erneuert; das Abgegossene eingeengt und zur Analyse aufbewahrt. Außerdem wurde die in den Goochtiegeln durch Verbrauch des Oxalats alkalisch werdende Nährlösung mit Oxalsäure von Zeit zu Zeit, meistens jeden zweiten Tag, neutralisiert. Der Verbrauch an Oxalsäure war in allen Goochtiegeln ziemlich gleichmäßig, so daß die zugesetzte Oxalsäuremenge fast überall gleich, nämlich 0,5 g betrug.

Alle zur Verwendung gelangten Mineralpulver[1]), und zwar: Orthoklas, Mikroklin, Oligoklas, Labradorit, Nephelin (Elaeolith), Leucit, Kaliglimmer (Muscovit), Magnesiaglimmer (Meroxen), Olivin, Augit, Hornblende, Turmalin und Apatit entstammten unverwittertem Material und wurden bis zu einem Durchmesser von 0,1 mm für die größten Körnchen abgesiebt. Vor dem Einwägen in die Versuchsgefäße wurden die Pulver bis auf ca. 300° erhitzt.

In den Kulturen war das Mineralpulver von den Bakterien durchweg stark durchsetzt: in den Kulturen der Buttersäurebakterien und auch der Hefe ließ es sich ziemlich schwierig, in denjenigen des Nitritbildners fast nicht und in den Kulturen des Bacillus extorquens gar nicht aufschütteln. B. extorquens umhüllte das ganze Pulver derart mit starken und zähen Häuten, daß beim langandauerndem Schütteln sich nur größere „Fladden", bestehend aus dem festumhüllten Mineral, von der Glaswandung losreißen ließen.

Die Reaktion der Lösung blieb in den sterilen Kontrollen während der ganzen Versuchsdauer ungefähr gleich schwach alkalisch, ebenso in den Kulturen des Nitritbildners mit Ausnahme der Orthoklaskultur, die ein wenig sauer geworden war. In den Kulturen mit Hefe wurde sie durchweg schwach sauer, in den der Buttersäurebakterien sehr stark sauer, dagegen in den Kulturen des B. extorquens fortwährend stark alkalisch.

Der fortwährend eintretenden starken Alkalinität in den Kulturen des B. extorquens ist auch die Abnahme der Intensität der Oxalsäurezersetzung mit dem Alter der Kulturen zuzuschreiben, weshalb man auch kein reines Bild von der Abhängigkeit der Mineralzersetzung von der

[1]) Sämtliche Mineralien stammten von der Firma Dr. Fr. Krautz, Bonn.

verbrauchten Oxalsäuremenge resp. gebildeten Kohlendioxydmenge erhalten konnte.

Das in die Kulturen des B. extorquens gegebene Oxalat resp. die zugesetzte Oxalsäure war bei Abbruch der einzelnen Versuche stets bis auf Spuren verbraucht.

Was die Kulturen des Nitritbildners anbetrifft, so wurden davon von Zeit zu Zeit Proben zum Nachweis von noch vorhandenem Ammon entnommen und je nach dem Verbrauch frisches Ammonsalz als Karbonat zugesetzt. So erhielt im Laufe des Versuches die Kultur auf Orthoklas noch 0,05 g Ammonkarbonat, diejenigen auf Mikroklin und Kaliglimmer 0,1 g, die Kultur auf Hornblende 0,12 g und die auf Nephelin und Leucit je 0,21 g Ammonkarbonat. Auf salpetrige Säure wurden die Kulturen mit Diphenylamin in Schwefelsäure und mit Rieglers Reagens geprüft. Dabei zeigte sich, daß in der Orthoklaskultur nur sehr wenig Nitrit entstand (eine Platinöse der Kulturflüssigkeit gab nur eine ziemlich schwache Blaufärbung des Diphenylamins und eine schwach rote Färbung des Rieglerschen Reagens), während die übrigen Kulturen, von Mikroklin an, immer größere Mengen von Nitrit anzeigten, am meisten Leucit und Nephelin. Die Resultate ergaben dann auch eine weit stärkere Zersetzung des Minerals in den Kulturen, die eine starke Nitritreaktion zeigten. Beim Abbruch der Versuche war noch in allen Kulturen Ammon vorhanden, am wenigsten in der Leucit- und Nephelinkultur.

In den Buttersäurebakterienkulturen war die Dextrose bis auf 70—80% verbraucht (nur in der Hälfte des Filtrates von drei Kulturen bestimmt), in den Hefekulturen bis auf über 90% (nach Bestimmungen in ebenfalls drei Kulturen).

Da nach Winogradski durch Clostridium Pasteurianum annähernd 45% des Zuckers in Fettsäuren umgewandelt wird, so hätte in unseren Kulturen, die jede 4,5 g Dextrose enthielten, wovon 70 bis 80%, d. i. ca. 3—3,5 g verbraucht wurden, ungefähr 1,5 g Fettsäure, vorwiegend Buttersäure, entstehen können, daneben noch ungefähr dieselbe Menge an Kohlendioxyd. Da die Filtrate zur Bestimmung der darin gelösten Bestandteile der Minerale aufbewahrt werden mußten, so konnte in ihnen die Säuremenge nicht direkt bestimmt werden.

In den Hefekulturen, deren jede 4,5 g Dextrose enthielt, mußte bei einem Verbrauch von ca. 90% des zugesetzten Zuckers, da ja Hefen aus 1 g Monosaccharid ca. 0,5 g Kohlendioxyd bilden, ungefähr je 2 g Kohlendioxyd entstanden sein.

In den Kulturen des Nitritbildners mag die maximale Menge der salpetrigen Säure, aus der Oxydation des zugesetzten Ammons be-

rechnet, die in der untenstehenden Tabelle angegebenen Werte betragen haben:

Kultur auf	Gegebene Ammonsalzmenge in g	Darin N enthalten in g	Aus der Oxydation des zugesetzten N konnten entstanden sein HNO_2 in g
Orthoklas	0,06	0,02	0,067
Mikroklin	0,11	0,037	0,12
Kaliglimmer	0,11	0,037	0,12
Hornblende	0,13	0,043	0,144
Nephelin	0,22	0,073	0,244
Leucit	0,22	0,073	0,244

Da jedoch in keiner der Kulturen das Ammon völlig verbraucht worden war, so war daher überall die entstandene Menge an salpetriger Säure geringer, besonders aber in der Kultur mit Orthoklas, wie es die Reaktion auf salpetrige Säure und der baldige Stillstand der Nitrifikation bewies.

In den Kulturen des Bacillus extorquens dagegen, der bei gutem Wachstum aus dem verarbeiteten Oxalat ungefähr 75 % Kohlendioxyd des Oxalatgewichtes bildet, betrug die Menge des gebildeten Kohlendioxyds — mit Ausnahme der Kulturen der Goochtiegelserie (VI) — ungefähr $^3/_4$—$^4/_5$ des Mineralgewichtes in jeder Kultur, da ja dem Mineralgewicht gleiche Oxalsäuremengen zugesetzt und verarbeitet worden waren.

Was noch die Serie Va der B. extorquens-Kulturen anbetrifft, so muß erwähnt werden, daß in diese Serie absichtlich erst nach 2 Monaten Oxalsäure zwecks Neutralisation zugesetzt wurde, weshalb das Wachstum der Bakterien in dieser Serie wegen der zu starken Alkalinität während der erwähnten 2 Monate fast sistiert war. Auf diese Weise wollte man die Versuchsdauer gegenüber den Serien b und c verlängern zwecks Feststellung der Rolle, die die Zeit auf die Minerallösungsvorgänge in den Bakterienkulturen ausübt. Die Bakterien erholten sich in der Serie Va von der langanhaltenden Alkalinität erst nach 4—5 Tagen vom Zusatz der ersten Oxalsäuregaben an gerechnet, wie die Steigerung im Oxalatverbrauch zeigte.

Aus der obigen Betrachtung haben wir entnehmen können, welcher Art und welche ungefähren Mengen an Lösungsmitteln von den Bakterien in den verschiedenen Kulturen

erzeugt worden und zur Einwirkung auf die Mineralpulver gelangt sind.

Die Dauer der verschiedenen Versuche betrug 27—242 Tage; die der Kontrollen war länger als die der Bakterienkulturen. Die genaueren Daten hierfür findet man in den Tabellen.

3. Aufarbeitung der Kulturen.

Nach Ablauf der Versuchsdauer wurden die Mineralpulver zusammen mit der Bakterienmasse mit Ausnahme der Serie VI in den Goochtiegelkulturen, wo dies ja nicht nötig war, unter peinlichster Vermeidung von Substanzverlusten aus den Kulturgefäßen in dichte frische Goochtiegel gespült und völlig klar filtriert.

Der Rückstand in den Goochtiegeln wurde zwecks Entfernung der Bakterien bei einer Temperatur von 300—400° — die Goochtiegel wurden hierbei auf Asbestringen in größeren Porzellantiegeln aufgehängt — erhitzt und gewogen. Die Differenzen zwischen dem Anfangs- und Endgewicht der Mineralpulver beziehen sich in allen Angaben auf derart behandelte Pulver.

Die Behandlung der Filtrate richtete sich naturgemäß nach ihrer wahrscheinlichen Zusammensetzung, die gegeben war durch die Natur des Versuchsminerals, der ursprünglichen Nährlösung und der durch die Organismen erzeugten Produkte.

Als Basen kamen demnach in Betracht — außer dem von vornherein zugesetzten Ammon in den Nährlösungen III, VII und IX und dem Natron in Serie VIII nur die eventl. aus dem Mineral gelösten.

Als Säuren konnten in den Filtraten auftreten neben dem durch die Organismen produzierten Kohlendioxyd, den Fettsäuren und der salpetrigen Säure, noch die in den Nährlösungen vorhandenen geringen Mengen Phosphor- und Schwefelsäure.

Die Mengen dieser beiden Säuren waren aber, wie ich mich in 3 Teilproben von Filtraten durch Fällungen mit molybdänsaurem Ammon und Salpetersäure, dann durch Baryumchlorid überzeugt habe, äußerst gering, so daß sie bei der Analyse füglich außer acht gelassen werden durften. Fast die gesamte zugesetzte Phosphorsäure wird in der Leibessubstanz der Bakterien enthalten gewesen sein, wie dies auch aus Bestimmungen der Trockensubstanz der Bakterien zu folgern war. Ich habe nämlich in 8 Fällen die Trockensubstanz derart bestimmt, daß ich das in den Goochtiegel gespülte Mineralpulver samt der Bakterienmasse bei 120°

erhitzt und gewogen, dann bei 300—400° erhitzt und die dabei sich ergebende Differenz als Bakterientrockensubstanz berechnet habe. Ich erhielt hierbei Werte von 60—150 mg, im Mittel 90 mg Bakterientrockensubstanz, die unter Zugrundelegung der Berechnungen von J. Stoklasa (I, S. 495) über den Phosphorgehalt der Bakterien, den er zu ca. 5 % gefunden hat, fast die ganze Menge des in der ursprünglichen Nährlösung vorhandenen Phosphors enthalten würden. Die obigen Ausführungen beziehen sich jedoch nicht auf die Filtrate der Apatitkulturen.

Der Gang der qualitativen Analyse war, mit Berücksichtigung der gegebenen Verhältnisse, im allgemeinen der übliche.

Die Filtrate wurden eingeengt — wobei sich die völlig klaren Filtrate der Kulturen meist stark trübten, in vielen Fällen unter Abscheidung von meist rotbraunen Flöckchen, die auf Ferrihydroxyd schließen ließen — verdampft, darauf zwecks Verjagung der Ammonsalze und Zersetzung der Oxalate (bei den Kontrollen) gelinde geglüht; hierauf wurde mit Salzsäure aufgenommen (meist Aufbrausen), wobei in den meisten Fällen ein unlöslicher Rückstand verblieb, wiederum verdampft, von neuem mit Salzsäure aufgenommen und vom Rückstand abfiltriert. Das Filtrat wurde sodann auf die erwarteten Basen qualitativ untersucht, während der in Salzsäure unlösliche Rückstand mit kohlensaurem Natron auf dem Wasserbade erhitzt wurde zwecks Erkennung der Kieselsäure.

Die Filtrate der Buttersäurebakterienkulturen (Serie VIII) und der Hefekulturen (Serie IX) mußten, mit Rücksicht auf den in ihnen befindlichen Dextroserest und die Fettsäuren zuerst verascht werden, was beim langsamen Erhitzen im Platintiegel ausgeführt wurde.

Da die qualitative Analyse stets mehrerer Kulturfiltrate eines und desselben Minerals darüber orientierte, welche Basen und in welcher ungefähren Menge in Lösung gegangen sind, so wurde mit dem Filtrat mindestens einer Kultur eines jeden Minerals die quantitative Analyse durchgeführt.

Der Gang derselben war im allgemeinen folgender: Nach dem Eindampfen des Filtrates, Verjagung der Ammonsalze durch Erhitzen und Abscheidung der Kieselsäure mittels Salzsäure wurde das von Kieselsäure befreite saure Filtrat mit Salmiak versetzt, aufgekocht, hierauf mit Ammoniak versetzt, gekocht, bis der Überschuß an Ammoniak fast verjagt war und der entstandene flockige Niederschlag — Eisen- und eventl. Aluminiumhydroxyd — abfiltriert.

Dieser Niederschlag wurde in wenig Salzsäure gelöst, mit Kalilauge versetzt, gekocht und abfiltriert. In dem nunmehrigen Niederschlag war das Eisen als Ferrihydroxyd vorhanden, welches, sofern es in einer sicher wägbaren Menge vorhanden war, in Salzsäure gelöst, mit Ammoniak gefällt, geglüht und als Fe_2O_3 gewogen wurde. Das Filtrat, welches Aluminat enthalten konnte, wurde mit Salpetersäure angesäuert, mit Ammoniak gefällt, geglüht und als Al_2O_3 gewogen.

Das von Eisen und Aluminium befreite Filtrat wurde darauf mit Salzsäure angesäuert, dann noch etwas Salmiak zugesetzt und darin das Kalzium mit heißem Ammonoxalat gefällt und als CaO gewogen. In das nun kalziumfreie Filtrat wurde Ammoniak im Überschuß gegeben und das Magnesium mit vorsichtig zugesetztem phosphorsaurem Ammon gefällt und als $Mg_2P_2O_7$ gewogen.

Das magnesiumfreie Filtrat wurde durch Kochen vom freien Ammoniak befreit und die überschüssige Phosphorsäure unter Zusatz von kohlensaurem Ammon mit vorsichtig tropfenweise zugesetztem Eisenchlorid gefällt, gekocht und abfiltriert. Dieses Filtrat wurde endlich zur Trockne verdampft, die Ammonsalze durch Erhitzen verjagt und der Rückstand, wenn Natrium erwartet wurde, gewogen, darauf mit ganz schwacher Salzsäure aufgenommen, Platinchlorwasserstoffsäure zugesetzt, bei niedriger Temperatur abgedampft und ätherhaltiger absol. Alkohol zugesetzt, gewaschen, getrocknet und als $K_2[PtCl_6]$ gewogen, das Natrium aus der Differenz bestimmt.

In einigen Fällen, wie bei Orthoklas, Mikroklin, Nephelin und Leuzit, wo nur äußerst geringe Mengen von Kalzium und Magnesium, nach dem Ausfall der qualitativen Analyse zu urteilen, vorhanden waren, wurde das Kalium als Kaliumkobaltnitrit gefällt, hierauf bei ca. 300^0 zersetzt, abfiltriert und als Kaliumplatinchlorid gefällt und gewogen. Das De Konincksche Reagens habe ich nach der Vorschrift von K. Gilbert (S. 10) hergestellt, welches sich ausgezeichnet auch zum qualitativen Nachweis von Kalium bei sehr geringen Mengen desselben eignet. Qualitativ auf Natrium wurde mit pyroantimonsaurem Kali ($K_4Sb_2O_7$) geprüft.

In den Kulturen auf Apatit wurde die Phosphorsäure mittels der Molybdatmethode im Filtrat, und leider nicht auch im Rückstand bestimmt.

4. Versuchsergebnisse.

In den nun folgenden Tabellen I—XIV findet man die einzelnen Versuchsergebnisse für jedes Mineral besonders zusammengestellt.

Orthoklas (von Krageröö, Norwegen).

Tabelle I.

Beimpft mit	Serien-Nr. der Nährlösung	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	1,2678	1,2672	0,0006	0,05	—
"	II	—	1,0595	1,0578	0,0017	0,16	—
"	IV	—	0,6141	0,6130	0,0011	0,18	—
Bacillus extorquens .	VI	121	1,3352	1,3078	0,0274	2,05	siehe unten
Nitrosomonas europaea Winogr. . .	VII	83	1,7246	1,7188	0,0058	0,34	K
Clostridium Pasteurianum	VIII	50	1,8612	1,8468	0,0144	0,77	K, Fe, SiO_2, Ca, Na
Hefe	IX	33	1,6870	1,6772	0,0098	0,58	K, Ca (Spur), Fe, SiO_2

Der Abdampfrückstand des Filtrates der Goochtiegelserie wog nach Verjagung der Ammonsalze 0,0355 g. Darin war: SiO_2 0,0095 g, Fe_2O_3 wägbar, Al Spuren, K_2O 0,0146 g.

Mikroklin (von Mitchell Co, N-Carolina).

Tabelle II.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,7261	0,7257	0,0004	0,05	—
"	II	—	0,8860	0,8844	0,0016	0,18	—
" , steril . .	III	152	0,8254	0,8203	0,0051	0,62	K, SiO_2
"	IV	—	0,6283	0,6266	0,0017	0,27	—
B. extorquens . . .	Va	146	0,6218	0,5998	0,0220	3,54	
" " . . .	b	111	0,6445	0,6283	0,0162	2,51	K, Ca, Fe, SiO_2
" " . . .	c	93	1,1114	1,0880	0,0234	2,09	K, Ca, Spur Al, Fe, SiO_2
" " . . .	VI	110	1,2784	1,2496	0,0288	2,25	siehe unten
Nitrosomonas europaea W.	VII	82	1,2443	1,2354	0,0089	0,71	K, Ca, Fe
Clostridium Pasteur.	VIII	53	0,5198	0,5110	0,0088	1,69	K, Ca, Fe, Na
Hefe	IX	30	0,9029	0,8942	0,0087	0,96	K, Ca, Fe

Der ammonsalzfreie Eindampfrückstand des Filtrates der Serie VI wog 0,0378 g. Darin war: SiO_2 0,0067 g, Fe_2O_3 0,0039 g, Al Spuren, K_2O 0,0172 g.

Oligoklas (von Bamle, Norwegen).

Tabelle III.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,6521	0,6513	0,0008	0,12	—
"	II	—	0,5848	0,5819	0,0029	0,49	—
" , steril . .	III	157	0,9961	0,9889	0,0072	0,72	Na, Fe
B. extorquens . . .	Va	156	0,6967	0,6821	0,0146	2,10	K, Na, Ca, Fe, SiO_2
" " . . .	b	110	0,5751	0,5612	0,0139	2,42	Na, Ca, Fe, SiO_2
" " . . .	c	87	1,1314	1,1089	0,0225	1,99	K, Na, Ca, Al (Spur), Fe, SiO_2
" " . . .	VI	110	1,1538	1,1273	0,0265	2,30	siehe unten
Clostridium Pasteur.	VIII	54	0,5562	0,5428	0,0134	2,41	Na, Ca (Mg?)
Hefe	IX	31	1,8301	1,8079	0,0222	1,21	Na, Ca, Fe, SiO_2

Der ammonsalzfreie Abdampfrückstand des Filtrates der Serie VI wog 0,0391 g. Darin war: SiO_2 0,0089 g, Fe_2O_3 0,0031 g, Al Spuren, CaO 0,0032 g, MgO Spuren, K_2O Spuren, Na_2O 0,0118 g.

Labradorit (von Labrador).

Tabelle IV.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,9662	0,9658	0,0004	0,04	—
"	II	—	1,2274	1,2249	0,0025	0,20	—
" , steril . .	III	182	1,4600	1,4490	0,0110	0,75	Na, Ca, Spur SiO_2
"	IV	—	0,9600	0,9597	0,0003	0,03	—
B. extorquens . . .	Va	180	0,7678	0,7522	0,0156	2,03	Na, Ca, SiO_2, Spur Fe
" " . . .	b	161	0,7872	0,7680	0,0192	2,67	Na, Ca, SiO_2, Spur Fe
" " . . .	VI	112	1,1847	1,1591	0,0256	2,16	siehe unten
Clostridium Pasteur.	VIII	55	1,7698	1,7445	0,0253	1,43	Na, Ca, SiO_2 (wenig)
Hefe	IX	36	1,0459	1,0346	0,0113	1,08	Na, Ca, Spur SiO_2

Der ammonsalzfreie Abdampfrückstand des Filtrates der Serie VI wog 0,0308 g. Darin war: SiO_2 0,0064 g, Fe und Al Spuren, CaO 0,0081 g, Mg Spuren, Na_2O 0,0083 g.

Nephelin (Elaeolith) von Miask, Ural.
Tabelle V.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,6848	0,6846	0,0002	0,03	—
„	II	—	0,6742	0,6694	0,0048	0,71	—
„ , steril . .	III	240	0,6988	0,6890	0,0098	1,40	K, SiO_2 (Na?)
„	IV	—	1,4736	1,4601	0,0135	0,92	K, Na, SiO_2
B. extorquens . . .	Va	227	0,9239	0,8952	0,0287	3,11	K, Na, SiO_2
„ „ . . .	b	161	0,7559	0,7202	0,0357	4,72	siehe unten
„ „ . . .	c	52	0,3743	0,3499	0,0244	6,52	K, Na, SiO_2
„ „ . . .	VI	123	1,4070	1,3483	0,0587	4,17	siehe unten
Nitrosomonas europaea W.	VII	86	0,8916	0,8692	0,0224	2,51	Na, K, Ca, Al, Fe, SiO_2
Clostridium Pasteur.	VIII	52	2,7550	2,6694	0,0856	3,11	siehe unten
Hefe	IX	32	1,1017	1,0803	0,0214	1,94	K, Na, SiO_2, Spur Fe

Die ammonsalzfreien Abdampfrückstände der Filtrate wogen:

in Serie Vb 0,0456 g. Darin war: SiO_2 0,0153 g, Al_2O_3 wägbar, K_2O 0,0095 g, Na_2O 0,0102 g:

in Serie VI 0,0697 g. Darin war: SiO_2 0.0124 g, Al_2O_3 0,0034 g, K_2O 0,0195 g, Na_2O 0,0234 g;

in Serie VIII 0,1283 g. Darin war: SiO_2 0,0146 g, Al_2O_3 wägbar, Fe Spuren, K_2O 0,0294 g, Na_2O 0,0598 g (ein Teil des Natriums aus dem Na-Gehalt der Nährlösung).

Leucit (vom Albanergebirge).
Tabelle VI.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,9733	0,9689	0,0044	0,45	—
„	II	—	1,0997	1,0893	0,0104	0,94	K, SiO_2
„ , steril . .	III	181	0,9414	0,9299	0,0115	1,22	K, Na, SiO_2
„	IV	—	0,8874	0,8796	0,0078	0,88	K
B. extorquens . . .	Va	225	1,4063	1,3741	0,0322	2,29	siehe unten
„ „ . . .	b	79	0,5166	0,5011	0,0155	3,00	K, SiO_2
„ „ . . .	c	86	0,8286	0,8034	0,0252	3,04	K, Na, SiO_2, Al
„ „ . . .	VI	124	1,5006	1,4505	0,0501	3,34	siehe unten
Nitrosomonas europaea W.	VII	85	1,1333	1,1056	0,0277	2,44	„ „
Clostridium Pasteur.	VIII	53	0,8686	0,8360	0,0326	3,75	„ „
Hefe	IX	30	1,0312	1,0041	0,0271	2,63	K, SiO_2

In den Filtraten wurde an Gesamtrückstand gefunden:

in Serie Va 0,0374 g. Darin war: SiO_2 0,0108 g, Al_2O_3 0,0046 g, K_2O 0,0234 g;

in Serie VI 0,0643 g. Darin war: SiO_2 0,0145 g, Al_2O_3 0,0072 g, K_2O 0,0396 g, Na_2O Spuren;

in Serie VII 0,0368 g. Darin war: SiO_2 0,0082 g, Al_2O_3 wägbar, K_2O 0,0234 g;

in Serie VIII 0,0580 g. Darin war: SiO_2 0,0064 g, Al u. Fe Spuren, K_2O 0,0292 g, Na_2O 0,0184 g (aus der Nährlösung, die Na enthielt).

Kaliglimmer (Muskovit) aus der Auvergne.

Tabelle VII.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,9209	0,9197	0,0012	0,13	—
„	II	—	0,9151	0,9104	0,0047	0,51	—
„ , steril . .	III	138	0,6245	0,6197	0,0048	0,77	—
„	IV	—	0,9636	0,9589	0,0047	0,49	K, Fe
B. extorquens . . .	Va	138	0,5657	0,5415	0,0242	4,28	K (viel), Ca u. Fe Spuren, SiO_2
„ „ . . .	b	152	1,0957	1,0609	0,0348	3,17	siehe unten
„ „ . . .	VI	113	1,3587	1,3191	0,0396	2,92	„ „
Nitrosomonas europaea W.	VII	84	0,9752	0,9644	0,0108	1,11	K, Ca, Fe, SiO_2
Clostridium Pasteur.	VIII	51	1,1576	1,1386	0,0190	1,64	K, Ca, Fe, SiO_2, Na (stark)
Hefe	IX	32	0,6235	0,6143	0,0092	1,47	K, Fe

Der Abdampfrückstand wog:

in Serie Vb 0,0398 g. Darin war: SiO_2 0,0081 g, K_2O 0,0241 g, Al_2O_3 wägbar, Spuren von Fe und Na;

in Serie VI 0,0469 g. Darin war: SiO_2 0,0079 g, Al_2O_3 0,0046 g, K_2O 0,0272 g, Spuren von Fe und Na.

Magnesiaglimmer (Meroxen) von Miask, Ural.

Tabelle VIII.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	wiedergewogen g	Verlust in g	in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,3866	0,3861	0,0005	0,13	—
„	II	—	0,5708	0,5676	0,0032	0,56	—
„ , steril . .	III	136	0,4283	0,4240	0,0043	1,00	—
„	IV	—	0,5434	0,5423	0,0011	0,20	—
B. extorquens . . .	Va	111	0,3177	0,2930	0,0247	7,77	K, Mg, SiO_2, Spur. Fe
„ „ . . .	b	73	0,5173	0,4908	0,0265	5,12	siehe unten
„ „ . . .	c	94	1,2074	1,1683	0,0391	3,24	„ „
„ „ . . .	VI	108	0,6207	0,5847	0,0360	5,80	„ „
Clostridium Pasteur.	VIII	50	0,8550	0,8376	0,0174	2,04	K, Mg, SiO_2, Fe, Na
Hefe	IX	34	0,6690	0,6591	0,0099	1,49	K, Mg, SiO_2, Spur Fe

Der Abdampfrückstand wog:

in Serie Vb 0,0416 g. Darin war: SiO_2 wägbar, Al_2O_3 Spuren, Fe_2O_3 Spuren, MgO 0,0206 g, Na_2O Spuren, K_2O 0,0124 g;

in Serie Vc 0,0534 g. Darin war: SiO_2 0,0072 g, MgO 0,0229 g, K_2O 0,0148 g, Al_2O_3 wägbar, Fe Spuren, Na Spuren;

in Serie VI 0,0551 g. Darin war: SiO_2 0,0079 g, MgO 0,0196 g, K_2O 0,0112 g, Al_2O_3 wägbar, Spuren von Fe und Na.

Olivin (von Dreis, Eiffel).

Tabelle IX.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	wiedergewogen g	Verlust in g	in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,7171	0,7150	0,0021	0,29	—
„	II	—	1,3713	1,3642	0,0071	0,52	Mg, Fe
„ , steril . .	III	239	0,6206	0,6166	0,0040	0,64	Fe
„	IV	—	0,7693	0,7649	0,0044	0,57	Fe
B. extorquens . . .	Va	227	1,0467	1,0302	0,0165	1,58	Mg, Fe, SiO_2
„ „ . . .	b	150	1,0931	1,0762	0,0169	1,55	Mg, Fe, SiO_2
„ „ . . .	VI	124	2,2543	2,2124	0,0419	1,86	siehe unten
Clostridium Pasteur.	VIII	52	1,6608	1,6310	0,0298	1,79	„ „
Hefe	IX	27	1,3493	1,3347	0,0146	1,08	Mg, Fe, SiO_2

Der Abdampfrückstand wog:

in Serie VI 0,0678 g. Darin war: SiO_2 0,0082 g, Fe_2O_3 0,0162 g, MgO 0,0258 g, Spuren Ca und Al;

in Serie VIII 0,0723 g. Darin war: SiO_2 0,0058 g, MgO 0,0196 g, Fe_2O_3 0,0098 g, Na_2O 0,0192 g, Spuren Al und Ca.

Augit (von Boreslav, Böhmen).

Tabelle X.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	1,4543	1,4505	0,0038	0,26	—
„	II	—	0,9390	0,9337	0,0053	0,56	—
„ , steril . .	III	184	0,8782	0,8708	0,0074	0,84	Ca, Fe (Mg?)
B. extorquens . . .	Vb	102	1,0216	0,9803	0,0413	4,04	Mg, Ca, Fe, SiO_2
Clostridium Pasteur.	VIII	53	1,1071	1,0891	0,0180	1,63	Mg, 0,0088 CaO; Fe, SiO_2, Na (stark)
Hefe	IX	31	1,0195	1,0063	0,0132	1,28	Mg, Ca, Fe, SiO_2

Hornblende (von Lukov, Böhmen).

Tabelle XI.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	Mineralpulver wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	0,5638	0,5624	0,0014	0,24	—
„	II	—	0,7633	0,7594	0,0039	0,51	—
„ , steril . .	III	182	0,6783	0,6723	0,0060	0,88	Mg(?) Ca, Fe, SiO_2
„	IV	—	0,9196	0,9154	0,0042	0,42	Fe
B. extorquens . . .	Va	156	0,6840	0,6685	0,0155	2,27	Ca, Mg, Fe, SiO_2, K(?)
„ „ . . .	b	149	0,7182	0,6964	0,0218	3,04	Mg, Ca, Fe, SiO_2, K Spuren
„ „ . . .	VI	112	1,3085	1,2757	0,0328	2,51	siehe unten
Nitrosomonas europaea W.	VII	81	1,8257	1,7857	0,0400	2,19	„ „
Clostridium Pasteur.	VIII	51	1,0930	1,0640	0,0290	2,65	Na, K, Mg, Ca, Fe, SiO_2
Hefe	IX	32	1,7760	1,7512	0,0248	1,40	Mg, Ca, Fe, SiO_2

Der Abdampfrückstand wog:

in Serie VI 0,0497 g. Darin war: SiO_2 0,0069 g, Fe_2O_3 0,0063 g, CaO 0,0112 g, MgO 0,0143 g, Spuren von K, Na, Al;

in Serie VII 0,0638 g. Darin war: SiO_2 0,0063 g, Fe_2O_3 0,0058 g, CaO 0,0187 g, MgO 0,0164 g, K_2O wägbar, Spuren von Na und Al.

Schwarzer Turmalin.

Tabelle XII.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Kontrolle	I	—	1,1061	1,1043	0,0018	0,16	—
„	II	—	1,9303	1,9212	0,0091	0,47	Mg, Ca, Fe
„ , steril . .	III	242	0,7286	0,7248	0,0038	0,52	—
„	IV	—	0,8503	0,8466	0,0037	0,44	—
B. extorquens . . .	Va	225	1,2166	1,1870	0,0296	2,44	siehe unten
„ „ . . .	b	163	0,7464	0,7235	0,0229	3,07	Na, K, Mg, Ca, Al, Mn, Fe, SiO_2
„ „ . . .	VI	113	1,3040	1,2750	0,0290	2,22	siehe unten
Clostridium Pasteur.	VIII	50	0,8134	0,8055	0,0079	0,97	Na, Mg, Ca, Fe
Hefe	IX	29	0,8152	0,8081	0,0071	0,87	Mg, Ca, Fe, Na?

Der Abdampfrückstand wog:

in Serie Va 0,0386 g. Darin war: Na_2O 0,0056 g, K_2O 0,0046 g, MgO 0,0088 g, CaO wägbar. Fe_2O_3 0,0051 g, SiO_2 0,0068 g, Spuren Al, Mn;

in Serie VI 0,0418 g. Darin war: Na_2O 0,0062 g, K_2O 0,0048 g, MgO 0,0091 g, CaO wägbar, Fe_2O_3 0,0054 g, SiO_2 0,0059 g, Spuren Al und Mn. Die Reaktionen auf Bor blieben unsicher.

Roter Apatit (von Kragerö, Norwegen).

Tabelle XIII.

Beimpft mit	Serien-Nr.	Versuchsdauer Tage	Mineralpulver gegeben g	wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %	Im Filtrat Phosphorsäure bestimmt, die % der ursprüngl. bildet
Kontrolle	I	—	1,0486	1,0469	0,0017	0,16	P_2O_5 nicht wägbar
„ , steril .	III	152	0,7106	0,7099	0,0007	0,10	zu geringe Fällung um in $Mg_2P_2O_7$ überzuführ.
„	IVa	—	0,6186	0,6083	0,0103	1,66	0,0081 g P_2O_5 = 3,51%
„	b	—	0,4215	0,4138	0,0077	1,83	0,0061 g P_2O_5 = 3,88%
„	c	—	1,6579	1,6382	0,0197	1,19	0,0154 g P_2O_5 = 2,49%
B. extorquens . .	Va	236	1.5292	1,5114	0,0178	1,16	0,0391 g P_2O_5 = 6,86%
„ „ . .	b	106	0,7264	0,7189	0,0075	1,03	0,0356 g P_2O_5 = 13,15%
Clostridium Pasteur.	VIII	50	1,1934	1,1228	0,0706	5,92	0,0344 g P_2O_5 = 7,73%
Hefe	IX	34	1,2624	1,2517	0,0107	0,85	0,0083 g P_2O_5 = 1,76%
Kontrolle	Xa	—	1,4310	1,3881	0,0429	2,99	0,0329 g P_2O_5 = 6,17%
„	b	—	0,5610	0,5452	0,0158	2,81	0,0123 g P_2O_5 = 5,89%

Die Nährlösungen für die Kulturen auf Apatit, und ebenso selbstverständlich die Kontrollösungen, waren ohne jeden Zusatz von Phosphat. Die in den Filtraten gefundenen Phosphorsäuremengen entstammen daher nur dem Apatit, dessen Phosphorsäuregehalt ein ziemlich tiefer, nämlich 37,263 % (Anhydrid) war. Wenn auch die Apatitstücke äußerlich keine Anzeichen von Verwitterung aufwiesen, so enthielt er doch Kohlensäure, deren Gehalt den Phosphorsäuregehalt naturgemäß herabdrückte.

Die Kontrollen Xa und b (Tab. XIII) wurden in der Weise ausgeführt, daß, zu dem abgewogenen Apatitpulver die Nährlösung wie in III—V gegeben wurde, darauf solange gekocht wie diese Serien beim Sterilisieren, hierauf das dem Apatitpulver gleiche Gewicht an oxalsaurem Ammon (wasserfrei berechnet) zugesetzt, darauf 20 Min. lang gekocht, filtriert und die in Lösung gegangene Phosphorsäure mittels der Molybdatmethode, wie in den übrigen Filtraten, bestimmt wurde.

Bevor wir zur Besprechung der in obigen Tabellen niedergelegten Resultate übergehen, mögen dieselben, der leichteren Übersichtlichkeit wegen, in einer besonderen Tabelle (XIV) zusammengestellt hier noch vorgeführt werden.

Tabelle XIV.

Mineralart	Gelöst in % der ursprünglichen Gewichtsmenge der angewandten Mineralpulver											
	Serien											
	I	II	III	IV	Va	Vb	Vc	VI	VII	VIII	IX	X
Orthoklas . .	0,05	0,16	—	0,18	—	—	—	2,05	0,34	0,77	0,58	—
Mikroklin .	0,05	0,18	0,62	0,27	3,54	2,51	2,09	2,25	0,71	1,69	0,96	—
Oligoklas . .	0,12	0,49	0,72	—	2,10	2,42	1,99	2,30	—	2,41	1,21	—
Labradorit .	0,04	0,20	0,75	0,03	2,03	2,67	—	2,16	—	1,43	1,08	—
Nephelin . .	0,03	0,71	1,40	0,92	3,11	4,72	**6,52**	4,17	**2,51**	3,11	1,94	—
Leucit . . .	0,45	0,94	1,22	0,88	2,29	3,00	3,04	3,34	2,44	**3,75**	**2,63**	—
Kaliglimmer .	0,13	0,51	0,77	0,49	4,28	3,17	—	2,92	1,11	1,64	1,47	—
Magnesiaglimmer . .	0,13	0,56	1,00	0,20	**7,77**	**5,12**	3,24	**5,80**	—	2,04	1,49	—
Olivin . . .	0,29	0,52	0,64	0,57	1,58	1,55	—	1,86	—	1,79	1,08	—
Augit . . .	0,26	0,56	0,84	—	—	4,04	—	—	—	1,63	1,28	—
Hornblende .	0,24	0,51	0,88	0,42	2,27	3,04	—	2,51	2,19	2,65	1,40	—
Turmalin . .	0,16	0,47	0,52	0,44	2,44	3,07	—	2,22	—	0,97	0,87	—
Apatit[1] . .	nicht wägbar	—	nicht wägbar	3,51 3,88 2,49	6,86	13,15	—	—	—	7,73	1,76	6,17 5,89

[1]) Die Zahlen in den Rubriken beziehen sich nur auf die prozentische Löslichkeit der Phosphorsäure.

5. Diskussion der Ergebnisse.

Wenn wir den Grad der Löslichkeit der verschiedenen Mineralien in obigen Versuchen vergleichen, so konstatieren wir vor allen Dingen die stärkste Löslichkeit der Minerale in den Kulturen des Bacillus extorquens. Wohl ist in einem Fall (bei Leucit) die prozentische Menge des in Lösung gegangenen Pulvers in der Kultur der Buttersäurebakterien etwas größer als in den Kulturen des B. extorquens, doch ist dabei zu berücksichtigen, daß die Buttersäurebakterienkulturen fast viermal mehr Flüssigkeit enthielten als die Kulturen des B. extorquens.

Die durchweg stärkere Einwirkung des B. extorquens auf die Mineralpulver kann nur durch den überaus innigen Kontakt dieser Bakterie mit dem Mineralpulver erklärt werden. Die schleimigen Membranen dieser Bakterie sind ohne Zweifel mit Kohlensäure und kohlensaurem Ammon gesättigt, und durch die feste Umhüllung der einzelnen Mineralpartikel werden, in Verbindung mit der sehr starken Atmungsintensität dieser Bakterie (vergl. I. Abhandlung S. 27) derartig große Mengen Mineral in Lösung gebracht.

Mit geringen Ausnahmen — und zwar bei Oligoklas, Leucit und Olivin — ist in der Serie VI, trotz günstigerer Bedingungen, was die Entfernung der in Lösung gegangenen Mineralbestandteile anbetrifft, in dieser Serie doch weniger gelöst als in den Erlenmeyerkolbenkulturen. Doch auch dies spricht gerade für die prinzipielle Bedeutung der starken Umhüllung der Mineralpartikel durch die Bakterien, denn gerade in dieser Serie war die Ausbreitungsfläche des Mineralpulvers fünf- bis zehnmal kleiner und außerdem, was ebenfalls keine starke Umhüllung der Minerale zuließ, war in dieser Serie die Mineralmenge durchweg größer als in den Erlenmeyerkolben.

Daß aber die Menge des Minerals, bei sonst gleichen Bedingungen, was Art und Quantität der Nährlösung, Dauer und dergl. betrifft, von Bedeutung ist, das lehren fast alle Versuche. Wir finden fast stets (Serie V), daß, je geringer die Menge des angewandten Minerals, desto größer die prozentische Menge des Gelösten. Sehr deutlich zeigt uns das z. B. die Serie V der Kulturen auf Nephelin:

Bei 0,92 g Nephelin gingen 3,11 % in Lösung,
„ 0,75 g „ „ 4,72 „ „ „
„ 0,37 g „ „ 6,52 „ „ „

wobei die Dauer der Versuchszeit, die 227, 161 und 52 Tage betrug, für die größeren Mineralmengen obendrein noch proportional länger war als für die kleineren.

Da aber noch in dieser Serie das Gewicht der zugesetzten Oxalsäure gleich der Mineralmenge in jedem Versuch war, sonach in allen drei Versuchen die dem Mineralgewicht proportional gleiche Kohlendioxydmenge hätte entstehen müssen, so ist die größere Löslichkeit nur dem innigeren Kontakt zwischen Bakterien und Mineralpulver zuzuschreiben.

Dieselbe Auffassung drängt sich uns auch auf beim Vergleich der in Lösung gegangenen Mineralmengen in den Hefekulturen (Serie IX) mit den B. extorquens-Kulturen (Serie Va—c). Wir haben im zweiten Abschnitt berechnet, daß aus der Dextrose der Nährlösung in den Hefekulturen ca. 2 g Kohlendioxyd entstanden sein mögen, eine Menge also, die höchstens bis zur Hälfte von den Kulturen des B. extorquens gebildet worden ist, und trotzdem ist in den B. extorquens-Kulturen durchweg zwei- bis dreimal mehr vom Material gelöst als in den Hefekulturen, und das noch trotz der mindestens dreifachen Menge der Nährlösung in den Hefekulturen.

Daß ferner die relativ große Löslichkeit der Mineralpulver in den Serien Va—c nicht auf Kosten von Umsetzungsvorgängen zwischen Nährlösung und Mineralpulver zu setzen ist — wenn auch solche, wie die Kontrollserie III zeigt, stattfinden —, beweist die Kontrollserie IV. In dieser Serie ist die Löslichkeit sogar geringer gewesen trotz des großen Ammonkarbonatzusatzes und der darauffolgenden Ansäuerung mit Oxalsäure als in der Kontrollserie III.

Wenn also auch die Löslichkeit der Mineralpulver nur durch chemische Agentien, — wie Kohlensäure, Fettsäuren, Ammonkarbonat — verursacht worden ist, so ist doch die Lösungsintensität im hohen Grade von den Eigentümlichkeiten des Bakterienwachstums — innige Umhüllung der Mineralpartikel — abhängig gewesen.

Doch nicht nur in den Serien V und VI ist der Erfolg der Mineralumhüllung durch Bakterien zum Ausdruck gekommen, denn ähnliches sehen wir auch in den Serien VII und VIII. Die Nitritbildner durchsetzten, wie die mikroskopische Beobachtung erwies, ebenfalls stark das Mineralpulver und verkitteten die Mineralpartikel ähnlich wie B. extorquens. Daher konnten die relativ geringen Mengen salpetriger Säure relativ große Mineralmengen in Lösung bringen. Ähnliches läßt sich noch von den Buttersäurebakterien sagen, wenn auch in deren Kulturen die Verkittung des Mineralpulvers schon bedeutend geringer war.

Die Zeit spielt, wie Serie V zeigt, keine große Rolle. Im allgemeinen war auch die Versuchszeit in dieser Serie zu lang. Die Bakterien, geschwächt durch die fortwährend eintretende Alkalinität des

Nährmediums, verarbeiteten mit fortschreitendem Alter der Kulturen immer geringere Oxalatmengen.

Was dann noch die Serie VII anbetrifft, so fällt der große Unterschied in der Lösung schwerlöslicher Minerale gegenüber den leichtlöslichen auf, ein Unterschied, wie er besonders bei den Kulturen des Bacillus extorquens nicht so scharf zum Ausdruck gelangt. Der Grund hierfür ist im Mangel an genügend großen Mengen zur Neutralisation der entstehenden salpetrigen Säure geeigneten Basen zu suchen. Tatsächlich kam der Nitrifikationsprozeß in der Orthoklaskultur bald zum Stillstand, während er, besonders auf Leucit und Nephelin, wie der Verbrauch an den sukzessive zugesetzten Mengen von kohlensaurem Ammon bewies, weiter, wenn auch langsam, vorwärtsschritt. Im Boden wird daher der Anteil der Nitrifikationsbakterien an der Lösung von schwerzersetzbarem Mineral, besonders der Feldspate, wohl kein großer sein. Doch kann natürlich die Frage, mit Rücksicht auf die wenigen Versuche, durchaus nicht als entschieden hingestellt werden.

In den Kulturen der Buttersäurebakterien, die, wie aus der Betrachtung im zweiten Abschnitt ersichtlich, in jeder Kultur ungefähr 1,5 g Fettsäuren gebildet haben mögen, ist der in Lösung gegangene Teil der Mineralpulver verhältnismäßig nicht groß. Die Verlängerung der Versuchsdauer hätte wenig genützt, da die Hauptmenge des Zuckers schon verbraucht, die allermeisten Bakterien schon Sporen gebildet haben, und die wenigen noch lebenden wegen des starken Säuregehaltes — sie waren stark gekörnt — geschädigt waren. Wie der starke Säuregrad bewies, war nur ein verhältnismäßig geringer Teil der Säure an Basen gebunden. Der Hauptgrund für die relativ geringe Lösung der Mineralpulver wird sicherlich in der geringen Menge der sich entwickelnden Bakterien gelegen haben, deren Trockensubstanz, in vier Kulturen genau wie bei Bacillus extorquens bestimmt, sehr gering war; ich erhielt Werte von 9—19 mg. Der Grund hierfür lag wahrscheinlich in dem Mangel an gebundenem Stickstoff, der den Lösungen dieser Serie nicht zugesetzt worden war, und in dem durch ziemlich dichte Wattestopfen erschwerten Zutritt von atmosphärischem Stickstoff. Die Bakterien veratmeten daher viel von der vorhandenen Dextrose, bildeten jedoch wenig Leibessubstanz, wodurch der Kontakt mit dem Mineralpulver nur ein relativ geringer und die Lösung des Minerals ebenfalls schwächer war als sie bei Anwesenheit größerer Bakterienmassen gewesen sein würde.

Was die einzelnen Mineralarten anbetrifft, so bemerken wir die stärkste Lösung durch Bacillus extorquens am Magnesiaglimmer, dann am Nephelin, Leucit und Kaliglimmer.

Nephelin und Leucit sind ja an und für sich die leichtlöslichsten der angewandten Mineralien, und ihre prozentuale Lösung ist in allen Kulturen durchweg größer als die der anderen Minerale. Auffallend allerdings sind die Resultate mit Magnesiaglimmer, der sich in den Kulturen des B. extorquens als der leichtlöslichste erwies, wie auch die relativ große Löslichkeit des Kaliglimmers. Doch gerade an diesen beiden Mineralien, — abgesehen davon, daß auch Šicha (S. 33—34) die Löslichkeit des Glimmers größer fand als die des Feldspates — kommt die Bedeutung der innigen Umhüllung der Mineralpartikel durch die Bakterien besonders deutlich zum Ausdruck. Die Glimmer nämlich bilden bei ihrer Pulverisierung, nicht wie andere Mineralien, körnige Partikel, sondern äußerst dünne Lamellen, wodurch die Fläche des Glimmerpulvers sehr vergrößert wird.

Die Bakterien vermochten daher auch dieses Pulver weit intensiver zu durchsetzen und zu umhüllen, wodurch die prozentische Löslichkeit ganz bedeutend gefördert worden ist.

Bei größerem Durchmesser der einzelnen Mineralpartikel wird naturgemäß die Umhüllung, auch bei gleichbleibender Bakterienmenge, entsprechend der kleineren Mineraloberfläche geringer und daher auch der Lösungseffekt herabgesetzt. Dies war von vornherein zu erwarten und ist auch durch einige Versuche mit Leucit bestätigt worden, wie untenstehende Tabelle (XV) zeigt.

Kulturen des B. extorquens auf Leucitpulver in Nährlösung wie Serie V.

Tabelle XV.

Versuchsdauer Tage	Korndurchmesser des Leucitpulvers	Vom Leucitpulver Gegeben g	Wiedergewogen g	Verlust in g	Verlust in %
79—225	bis 0,1 mm	Vergl. Tabelle VI, Serie Va—c			2,29—3,04
89	von 0,1 —0,19 cm	0,9551	0,9373	0,0178	1,87
96	„ 0,1 —0,19 „	1,0533	1,0369	0,0164	1,56
91	„ 0,19—0,42 „	0,9241	0,9118	0,0123	1,33
85	„ 0,19—0,42 „	0,8722	0,8591	0,0131	1,50

Allerdings ist in den obigen Versuchen die Abnahme der Löslichkeit nicht proportional der Zunahme der Korngröße, sie ist aber trotzdem unverkennbar.

Was die Löslichkeit des Apatites anbetrifft, so ist der Lösungsvorgang nur in den Kulturen der Buttersäurebakterien ohne weiteres

begreiflich. Mit dem Gehalt an Phosphorsäureanhydrid des Filtrates von 0,034 g steht die Gewichtsabnahme von 70 mg des gesamten Apatitpulvers annähernd im Einklang. Durch die von diesen Bakterien gebildete Fettsäure wird eine Hydrolyse und teilweise Umsetzung des unlöslichen Trikalziumphosphates in wasserlösliches Monophosphat und fettsauren Kalk bewirkt worden sein. Anders jedoch steht es mit den Ergebnissen der Serie V. Der prozentische Betrag an in Lösung gegangener Phosphorsäure ist in den beiden Parallelserien von V sehr ungleich; außerdem ist aber in den Filtraten bedeutend mehr Phosphorsäureanhydrid gefunden als die Gewichtsabnahme des ganzen Apatitpulvers überhaupt beträgt. Hier wird es sich wohl um viel mehr rein chemische, von den Bakterien weniger beeinflußte Umsetzungen handeln als es in der Clostridiumkultur der Fall war. Ein geringer Teil des unlöslichen Kalziumphosphats wird sich wohl mit dem bei der Atmung des B. extorquens sich bildenden Ammonkarbonat umgesetzt haben, was lösliches Ammonphosphat und unlösliches Kalziumkarbonat zur Folge hätte, der größere Teil aber wird wohl mit der zugesetzten Oxalsäure resp. oxalsaurem Ammoniak Umsetzungen erfahren haben. Es ist mir aufgefallen, daß besonders in den ersten Wochen nach Beimpfung der Kulturen die Nährlösung stets nur schwach alkalisch wurde, während in allen anderen Kulturen (auf anderen Mineralien) die Nährlösungen äußerst schnell wegen Verbrauchs der Oxalsäure recht stark alkalisch wurden. Hier also beim Apatit, setzte sich die zugesetzte Oxalsäure mit dem Kalkphosphat um, bildete Kalkoxalat und wurde erst dann langsam vom B. extorquens verarbeitet (Bacillus extorquens verarbeitet nämlich auch die an Kalzium gebundene Oxalsäure).

In meiner Ansicht, daß in den Apatitkulturen der Serie V das ausgeatmete Kohlendioxyd oder das entstehende Ammonkarbonat eine untergeordnete Rolle gespielt, daß also die direkten Lebensvorgänge der Bakterien hier von keiner großen Bedeutung waren, bestärkt mich das Resultat der Hefekultur, in welcher durch das ausgeatmete Kohlendioxyd nur eine geringe Lösung des Apatits verursacht wurde, ferner die Kontrollen der IV. Serie und besonders die Resultate der Kontrollserie X.

Beim Apatit kommt sonach die Wirkung der Mineralumhüllung durch die Bakterien fast gar nicht zum Ausdruck, die Löslichkeit desselben steht vielmehr in direkter Abhängigkeit von der Natur der durch die Lebensvorgänge der Bakterien produzierten Stoffe, wie Serie VIII mit einer Löslichkeit von 7,73 %, wo Fettsäuren gewirkt haben, und Serie IX mit 1,76 %, wo nur Kohlensäure gewirkt hat, beweisen.

Die Resultate der V. Serie sind dagegen vorwiegend durch rein chemische Umsetzungsprozesse, für welche in diesem Falle die Bakterientätigkeit nur von untergeordneter Bedeutung war, bewirkt worden.

Wenn ich sonach aus den wenigen den Apatit betreffenden Versuchen allgemeinere Folgerungen ziehen dürfte, so müßte ich mich der Auffassung von A. Koch und Kröber, ferner auch, unter anderen, der von Sackett, Patten und Brown, dann Stålström, anschließen, die nur den organische Säuren produzierenden Bakterien eine bedeutendere Einwirkung auf die unlöslichen Phosphate zuschreiben.

Was noch im allgemeinen die Gewichtsabnahme der Mineralpulver beim Schluß der Versuche anbetrifft, so müßte, streng genommen, von der Gewichtsmenge der Minerale noch der Aschengehalt der Bakterien abgezogen werden, wodurch der prozentische Gewichtsverlust der Versuchsmineralien noch größer sein würde. Stoklasa (I, S. 495) fand in der Trockensubstanz einiger Bakterien 6,5—8,5 % Reinasche. Wenn wir diese Werte auf die in acht Bestimmungen der Trockensubstanz der Kulturen des Bacillus extorquens, Serie V, gefundenen Werte, im Mittel 90 mg, übertragen, ergäbe das, im Mittel 7 % Reinasche annehmend, immerhin noch ca. 6—7 mg Asche, die vom Restgewicht der Mineralpulver abzuziehen wären. Da ich aber nur in einem kleinen Teil der Kulturen die Trockensubstanz bestimmt habe, so konnte ich die soeben berechneten Werte in den Tabellen nicht zur Berechnung bringen. Anderseits ging es nicht an, die zwecks Verbrennung der Bakteriensubstanz erhitzten Mineralpulver mit Wasser auszulaugen, um ihnen auf diese Weise die aus der Bakterienmasse stammenden Aschenbestandteile zu entziehen, denn dabei hätten auch noch Anteile des Mineralpulvers in Lösung gehen können.

Ich möchte nachstehend noch in einer Tabelle (XVI) die Resultate über die prozentische Löslichkeit einiger Minerale zusammenstellen, wie sie bei Behandlung von pulverisierten Mineralien mit unter Druck mit Kohlendioxyd gesättigtem Wasser von J. R. Müller (angewendeter Druck von 3¼ Atmosphären) und F. Šicha (angewendeter Druck von 10 bis 50 Atmosphären) erhalten wurden, und sie den Resultaten gegenüberstellen, die ich in den besprochenen Versuchen durch Mikroorganismenwirkung erzielt habe. Die Zahlen sind Mittelzahlen, sofern sie aus mehreren Versuchen stammen.

Aus der Zusammenstellung (Tab. XVI) wird man entnehmen, daß von den Mineralien, mit Ausnahme von Olivin, in den Bakterienkulturen bedeutend mehr gelöst worden ist als in den Versuchen von Müller und Sicha, und besonders war dies bei den alkalihaltigen schwer zersetzbaren

Feldspaten und Glimmern der Fall. Auch beim Vergleich meiner Versuchsresultate in den Rubriken I und II mit den Resultaten von Müller und Šicha kommt die große Bedeutung der Kontaktwirkung zum klaren Ausdruck. Kohlensäure war in allen diesen Fällen das lösende Agens. Nun hat aber die Hefe entweder nur sehr wenig mehr oder sogar noch weniger gelöst als das Kohlendioxyd in den Versuchen Müllers und Šichas, obgleich die Lösungsbedingungen in den Hefekulturen in gewisser Hinsicht günstiger waren, durch Störung des chemischen Gleichgewichtes zwischen Gelöstem und Ungelöstem infolge von Aufnahme von Mineralbestandteilen als Nährstoffen durch die Hefezellen, als in den Versuchen von Müller und Šicha. Dagegen ist der Lösungseffekt in den Kulturen des Bacillus extorquens, trotz der Anwesenheit resp. Produktion von viel geringeren Mengen von Kohlendioxyd, gegenüber den Versuchen der beiden genannten Untersucher viel stärker — hauptsächlich also auf den starken Kontakt der Bakterien mit dem Mineralpulver zurückzuführen.

Tabelle XVI.

Mineralart	Die gefundene prozentische Löslichkeit betrug bei				
	Müller (S. 39)	Šicha (S. 17—34)	Bassalik		
			I Mittel aus den Kulturen des B. extorquens	II In den Hefekulturen	III Mittel aus allen Kulturen
Feldspat: Adular . .	0,33	—	—	—	—
Feldspat: Orthoklas .	—	0,58	2,05	0,58	0,93
Feldspat: Mikroklin .	—	—	2,47	—	1,96
Oligoklas	0,53	—	2,20	1,21	2,07
Kaliglimmer	?	0,88	3,46	1,47	2,43
Hornblende	1,54	1,07	2,90	1,40	2,34
Olivin	2,11	—	1,66	1,08	1,57

Ich hoffe also klar gezeigt zu haben, welch eine große Bedeutung dem innigen Kontakt bei den Lösungsvorgängen der Silikate, wo Kohlensäure als das lösende Agens auftritt, zukommt, und werde durch die besprochenen Tatsachen zu der Schlußfolgerung gedrängt, daß, je inniger der Kontakt, desto höher der Lösungseffekt ist.

Durch die Arbeiten von Fr. Czapek, J. Stoklasa und A. Ernest sowie J. H. Aberson ist wohl endgültig erwiesen worden, daß von den Wurzeln höherer Pflanzen normalerweise allein Kohlendioxyd ausgeschieden wird. Nun betrachten J. Stoklasa und A. Ernest die

verschieden starke Atmungsintensität der Wurzelsysteme als Ursache des verschiedenen Aufschließungsvermögens der Gramineen. Th. Pfeiffer und E. Blanck aber glauben auf Grund mehrjähriger Versuche mit Leguminosen die — übrigens schon seit Th. Dietrich so oft konstatierte — stärkere Aufschließungsfähigkeit dieser Pflanzen allein durch Produktion von stärkeren (organischen) Säuren erklären zu können, da das Aufschließungsvermögen durch die bisher diskutierten Gründe hierfür — wie stärkere Atmungsintensität, Wasserverbrauch, Größe der Wurzelmasse — nicht verständlich gemacht werden kann.

Demgegenüber sei es mir an dieser Stelle gestattet, mit Rücksicht auf die oben besprochenen Ergebnisse der Bakterienkulturen zu bemerken, daß möglicherweise der Grund des stärkeren Aufschließungsvermögens der Leguminosen in der stärkeren Ausbildung von Wurzelhaaren pro Wurzelflächeneinheit und in der evtl. stärkeren Verquellbarkeit der Wurzel- und Wurzelhaarmembranen zu finden wäre, allgemein gesagt, in der Vergrößerung und Verstärkung des Kontaktes zwischen Wurzel und Bodenpartikeln. In dieser Richtung vorgenommene vergleichende Untersuchungen fehlen uns, abgesehen von den wenigen älteren Angaben, wie z. B. bei Fr. Schwarz, noch völlig, und doch vermöchten sie, wie ich glaube, einiges Licht auf die stets wieder auftauchenden und interessanten Probleme der verschieden starken Aufschließungsfähigkeit der Pflanzen zu werfen.

Was noch die Bedeutung der Bakterien für die Verwitterung der Silikate im Boden anbetrifft, so bin ich in der Ansicht, daß diese eine eminente, und zwar die wichtigste von allen biologischen Verwitterungsfaktoren ist, durch die mitgeteilten Versuche noch mehr bestärkt.

Abgesehen von der Zersetzung organischer Reste im Boden, wobei ohne Zweifel auch die fester gebundenen mineralischen Bestandteile derselben in leichtlösliche Verbindungen übergeführt werden, sprechen auch die aus der Brachhaltung so zahlreich gewonnenen Erfahrungen dafür, daß die Mikroorganismen im Boden stark „aufschließend“ wirken. Rümkers Bedenken gegen die Brache stützen sich gerade auf die Tatsache der starken Verwitterung der Mineralbestandteile des Bodens während der Brache. Überdies hat J. Stoklasa (II, 91) auch direkt eine Einwirkung der Bakterien auf die unlöslichen mineralischen Bestandteile des Bodens dadurch nachgewiesen, daß er durch Zusatz von Traubenzucker zu Böden, in denen sich weder wasserlösliches Kali noch Phosphorsäure hatten nachweisen lassen, nach Verlauf von 50 Tagen aus je 1 kg Boden 3—8 mg Kali durch Wasser hat ausziehen können.

Wenn man schließlich die Größenverhältnisse der Bakterien mit denen der Wurzeln oder Wurzelhaaren vergleicht, wird man ohne weiteres einsehen, daß z. B. 1 g Bakterien bei sonst gleichen Bedingungen im Boden eine viel größere Kontaktfläche als dieselbe Menge Wurzel- oder auch Wurzelhaarsubstanz repräsentiert, wodurch naturgemäß der Lösungseffekt verstärkt wird; überdies ist die Atmungsintensität der Bakterien durchweg stärker als die der Wurzeln, was bei den Lösungsvorgängen auch von großer Bedeutung sein muß. Schließlich vermögen die Bakterien dank ihrer Kleinheit auch in die feinsten Spalten in den Mineralpartikeln einzudringen und dort Lösungserscheinungen hervorzurufen und ebenso an die allerkleinsten Erdpartikel sich anzuheften, was beides den um vieles größeren Wurzeln oder Wurzelhaaren ganz unmöglich ist.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Bakterien vermögen mittels ihrer Atmungsprodukte bedeutende Lösungen von gepulverten Silikaten zu bewirken.

2. Diejenigen, welche organische Säuren produzieren, wie Clostridium Pasteurianum, beeinflussen dementsprechend auch stärker die Silikatlösung, doch ist

3. bei der Einwirkung von Mikroorganismen auf Gesteine die Intensität des Kontaktes zwischen dem Organismus und dem zu lösenden Mineral von größter Bedeutung und sogar wichtiger als die Natur des ausgeschiedenen Lösungsmittels, da

4. Bacillus extorquens, der nur Kohlendioxyd ausscheidet, die stärksten Lösungseffekte bewirkt hat, durch eben seine feste und innige Umhüllung des Mineralpulvers.

5. Hefe, die in den Kulturen mehr Kohlendioxyd gebildet hat als Bacillus extorquens, bewirkte, wegen des fehlenden festen Kontaktes mit dem Mineralpulver, die geringste Lösung.

6. Auch Nitritbakterien (Nitrosomonas europaea Winogr.) vermögen infolge ihrer physiologischen Befähigung zur Ammoniakoxydation, bedeutende Lösungen an Silikaten zu bewirken, doch, wie es scheint, an den leichter löslichen und erdalkalihaltigen, nicht oder nur schwächer an den schwerlöslichen, kieselsäurereichen, den Feldspaten.

7. Zu bedeutenderen Lösungen von Apatit scheinen nur die organische Säuren produzierenden Bakterien befähigt, dagegen in nur geringem Grade diejenigen, die nur Kohlendioxyd ausscheiden.

8. In den Filtraten der Bakterienkulturen, besonders aber in denen des Bacillus extorquens, konnten meist alle in dem Versuchsmineral vorhandenen chemischen Bestandteile nachgewiesen werden.

9. Am stärksten in Lösung gegangen sind die Alkalien, dann die Erdalkalien und das Eisen, ferner die Kieselsäure und am wenigsten die Tonerde, die auch dementsprechend nur seltener hat nachgewiesen werden können.

10. Von den 12 Versuchssilikaten wurde durch Bacillus extorquens prozentual am stärksten Magnesiaglimmer gelöst, dann Nephelin, Kaliglimmer und Leucit, am schwächsten Olivin.

11. In den Kulturen der anderen Bakterien entsprach die prozentische Löslichkeit der Versuchsmineralien mehr ihrem gewöhnlichen Löslichkeitsgrad, so daß Leucit und Nephelin am leichtesten, Orthoklas am schwersten löslich war.

12. Die große Löslichkeit der Glimmer in den Kulturen des Bacillus extorquens war dadurch bedingt, daß diese Mineralien beim Pulverisieren nicht in körnige Partikel, sondern in feinste Lamellen zerfallen, wodurch sie den zähen Häuten des Bacillus extorquens die größten Flächen zur Umhüllung geboten haben.

Literaturverzeichnis.

Aberson, J. H., Ein Beitrag zur Kenntnis der Natur der Wurzelausscheidungen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 41.

Bassalik, K., Über Silikatzersetzung durch Bodenbakterien, I, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. II, 1912, S. 1.

Gilbert, K., Die Bestimmung des Kaliums nach quantitativer Abscheidung desselben als Kaliumnatriumkobaltnitrit. Diss. Tübingen 1898.

Hesse, H., Beiträge zur Morphologie und Biologie der Wurzelhaare. Diss. Jena 1904.

Müller, J. R., Untersuchungen über die Einwirkung des kohlensäuregesättigten Wassers usw. Diss. Leipzig 1877.

Pfeiffer, Th. und Blanck, E., Die Säureausscheidung der Wurzeln und die Löslichkeit der Bodennährstoffe in kohlensäurehaltigem Wasser. Landw. Vers.-Stat., Bd. LXXVII, 1912, S. 217.

Šicha, Fr., Untersuchungen über die Wirkungen der beim hohen Druck mit Kohlensäure usw. Diss. Leipzig, 1891.

Schwarz, Fr., Über die Wurzelhaare. Unters. a. d. bot. Institut Tübingen, Bd. I, 1881—1885, S. 135.

Stoklasa, Jul., Biochemischer Kreislauf des Phosphat-Jons im Boden. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXIX, 1911, S. 385.

—, Beitrag zur Kenntnis der Stickstoffanreicherung des Bodens usw. Ref. Biedermanns Centralbl. f. Agrikulturchemie, Bd. LXXXVIII, 1909, S. 86.

—, und Ernest, A., Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI, 1909, S. 55.

Über Ophiobolus herpotrichus Fries und die Fußkrankheit des Getreides.

Von **Dr. Ernst Voges.**

Einleitung.

Zu den Ascomycetenpilzen, die ein besonderes Interesse erwecken wegen ihres morphologischen und biologischen Verhaltens, gehört auch Ophiobolus herpotrichus Fr. Welche Rolle er in phytopathologischer Hinsicht spielt, das erhellt schon aus seiner Bezeichnung Weizenhalmtöter, die ihm 1894 Frank[1]) beilegte. Ob mit Recht, das werden wir hernach sehen. Unser Ascomycet ist denn auch zum Gegenstand zahlreicher Untersuchungen seitens in- und ausländischer Forscher geworden, vornehmlich als angeblicher Erreger einer verheerenden Krankheit des Getreides, die in Frankreich Piétin du blé oder Maladie du pied und nach Hiltners[2]) Verdeutschung Fußkrankheit genannt wurde. Die letzte größere Arbeit liegt von Fr. Krüger[3]) vor, worin auch die bezügliche Literatur aufgeführt ist. In dieser 1908 erschienenen Arbeit äußert der Autor, daß sie nichts Abgeschlossenes, sondern nur eine Übersicht über die bisherigen Versuche und Untersuchungen sowie die Schlüsse und Vermutungen bringe, die sich auf Grund der bisher erhaltenen Resultate folgern lassen, und das um so mehr, als es an tatsächlichen Versuchen über den Gegenstand in Deutschland bisher fehle.

Aber so viel auch über unseren Pilz als Erreger der Fußkrankheit berichtet ist, so wenig ist verhältnismäßig über diesen selbst bekannt. Wir folgen hier besonders den Angaben Krügers. Von der Keimung der Ophiobolus-Ascosporen sagt dieser Autor, daß sie in dem Kondenswasser, nachdem sie etwas angeschwollen, lange, dünne, farblose, ver-

---

[1]) Frank, Deutsche Landwirtschaftl. Presse, 1894, Nr. 51 u. Nr. 67.

[2]) Hiltner, Sächs. Landwirtschaftl. Zeitung, Jahrg. 1894, Nr. 33.

[3]) Krüger, Untersuchungen über die Fußkrankheit des Getreides: Arbeiten aus der Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- und Forstwirtschaft, Bd. VI, Heft 3, Berlin, 1908.

zweigte und septierte Pilzfäden treiben, womit die Entwicklung meistens aufhöre. Noch ungünstigere Resultate erhielt Krüger, wenn er schon vor Beginn des Keimungsaktes die Sporen in Nährlösung brachte; die Keimung unterblieb dann in der Regel überhaupt. Und obwohl zahlreiche Züchtungsversuche in den verschiedensten Nährmedien angestellt wurden, so bildeten sich doch nur einmal an den Enden des Keimschlauches, der nicht einmal die Länge der Spore erreicht hatte, nach einigen Tagen kleine sichelförmig geformte, farblose Fortsätze, die Krüger für Appressorien anspricht. Auch Mangin[1]) hat nach dem Zitat Krügers bei seinen Züchtungsversuchen nur dürftige Keimlinge mit solch' sichelförmigen Gebilden erhalten, die Mangin für Sporidien hält und die jedoch in Nährsubstraten nicht wahrnehmbar keimten. Aber auf Wurzeln lebender Weizenpflanzen glaubt er einen Keimschlauch auf der Oberfläche der Wurzelhaare entlang kriechend gesehen zu haben, der später die Membran durchbohrte und in das Innere eindrang.

Als Nebenfruchtform von Ophiobolus herpotrichus wird von Saccardo[2]) Hendersonia herpotricha Sacc. aufgeführt. Auch für L. Hiltner[3]) steht dieser Zusammenhang außer Zweifel, während Krüger erklärt, daß alle seine Versuche, eine genetische Zusammengehörigkeit zwischen Ophiobolus herpotrichus und Hendersonia herpotricha nachzuweisen, mißlangen. Es hatte „die mit Sporen aus Hendersonia-Pykniden ausgeführte Infektion von Getreidepflanzen nur ein Wiederauftreten des genannten Pilzes, nicht aber ein solches des Ophiobolus herpotrichus an den Stoppeln zur Folge". Er meint indes, es erscheine nicht unmöglich, daß eine Fusariumart als Konidienform zu einer Ophiobolus- oder Leptosphaeriaart gehöre. — Wie weit die hier vorgetragenen Ansichten der Autoren nun zutreffend sind, das sollen die nachfolgenden Untersuchungen zu zeigen versuchen.

Unser Pilz findet sich an dem unteren Intermedium sowie den Blättern und Blattscheiden am Halmgrunde vorzeitig abgestorbener Weizenpflanzen mit weißfarbigem Halm und vielfach tauben Ähren. Vornehmlich aber erscheint er an den ährenlosen, abgestorbenen Bestockungstrieben der Weizenpflanzen. Es heißt von ihm, daß seine Perithecien im Herbst und Winter vorkommen; ich fand sie bereits im Juli. Er ist ferner von Krüger auch an Roggenpflanzen nachgewiesen.

---

[1]) Mangin, Sur le Piétin ou Maladie du Pied du Blé; Bull. de la Soc. Mycol. de France, 1899.

[2]) Saccardo, Sylloge Fungorum omnium hujusque cognitorum. Vol. II.

[3]) Hiltner, Eine Voraussage! Praktische Blätter f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz, Jahrg. 1912, S. 39.

Morphologisches.

Die großen braunschwarzen, lederigen, ei- bis kugel- oder flaschenförmigen Perithecien des Pilzes erkennt schon das bloße Auge in dem Oberhautgewebe der grundständigen Blätter sowie der Bestockungstriebe und des unteren Halmgliedes der Weizenpflanze. Sie sitzen herdenweise dicht nebeneinander in verschiedenen Entwicklungsstadien. Und zwar sitzen sie in einem Stroma, das aus braunen, derbwandigen und locker verflochtenen Hyphen besteht. Aus den gleichen knorrig ästigen, kastanienbraunen Hyphen setzt sich die Behaarung der Perithecien zusammen, die wie ein Dornenzweigwerk die Fruchtkapsel umgibt. Die braunen Hyphen kriechen frei über die Blattscheiden- bezw. Halmoberfläche hin. Sie bilden hier ferner knäuelartige, plektenchymatische Pilzgewebskörper. Und dieser Myzelbelag erscheint in der ganzen Ausdehnung des unteren Weizenhalminternodiums wie ein schwarzbrauner Überzug, der für die fußkranke Weizenpflanze charakteristisch sein soll.

Fig. 1.
Plektenchymatischer Pilzmyzelbelag vom fußkranken Weizenhalme mit Ophiobolus-Perithecium und Fusariumkonidien, entstanden an ausgetriebenen Hyphen in der feuchten Kammer. Vergr. 300.

Dies Myzel besteht somit einmal aus großkalibrigen, gelbbraunen, derbwandigen Hyphen, die entweder in lockerem Gewirr über die Epidermis verlaufen, oder in mehr oder minder breiten Strängen, welche durch ein dichtes Aneinanderlagern der Hyphen zustande kommen. Sodann, wie erwähnt, aus plektenchymatischen Gewebeplatten, welche dadurch entstehen, daß vornehmlich die kleinkalibrigen Hyphen miteinander Anastomosen eingehen, die sich vielfach verästeln und eckig oder mosaikartig aneinanderlegen, so daß es eben zu einem plektenchymatischen Gewebe (Fig. 1) kommt. Das derbwandige, braune Myzel, das frei über die Epidermis hinwegkriecht, geht in ein blasses, dünnwandiges im Gewebekörper des Nährwirts über, der inter- und intrazellulär durchwuchert wird.

Das Perithecium von Ophiobolus herpotrichus ist oft halsartig ausgezogen. Der kurze, leicht gekrümmte, aus dem Substrat schräg hervorbrechende Hals mündet mit einem länglichen Porus. Die Fruchtkapsel steht nicht aufrecht, sondern lagert dem Substrate an gleich einem auf die Seite gelegten flaschenförmigen Körper. Wie Querschnitte lehren, so ist die Perithecienwand überaus derb und dick. Sie besteht aus einem prosoplektenchymatischen Pilzfadengewebe, das sich aus 8—10 Schichten zusammensetzt. Die äußeren sind tief dunkelbraun; nach einwärts zu werden sie hellfarbiger, um dann in eine blasse Zellwandschicht überzugehen, von der büschelförmig die Asci und Paraphysen entspringen.

Die Paraphysen haben eine mächtige Entwicklung erlangt. Sie füllen mit den Sporenschläuchen den Binnenraum der großen Fruchtkapsel aus. Sie entspringen in ihrer üppigen Ausbildung auf der Innenwand des Peritheciums gleichwie das strauchartige Hyphengeflecht auf der Außenwand der Fruchtkapsel. Sind sie doch auch nichts weiter als sterile Hyphen, welche diesen ihren Charakter noch in ihrer Gestalt und in ihrem Bau erkennen lassen. Die Paraphysen sind um ein mehrfaches länger als die Asci, baumförmig verzweigt, von der Ursprungsstätte nach dem Scheitel zu sich verjüngend. Die freien Enden laufen zugespitzt zu. Die basalen Hyphenglieder der Paraphysenbüschel sind sanduhrglasförmig oder tonnenförmig, die terminalen langgestreckt. Sie stellen überaus zarte, blasse Gebilde dar, die nur schwer wahrnehmbar sind und alsbald zerfließen, so daß sich vielfach bloß noch die Asci in den Fruchtkapseln vorfinden.

Die Sporenschläuche sind kahn- bis keulenförmig, das Fußende leicht gekrümmt und kurz gestielt, das freie, terminale Ende gerade abgestutzt.

Die acht gelblichen Ascosporen, die fast ebenso lang sind als der Ascus, liegen in den Schläuchen nebeneinander gleichwie ein Bündel Zigarren, um ein Bild zu gebrauchen. Die einzelne fadenförmige Spore ist an beiden Enden abgerundet, leicht gekrümmt, nach unten etwas zugespitzt, vielzellig und mit zahlreichen Tröpfchen in den Zellen. Wie bei den Paraphysen, so stellt sich auch bei den Ascosporen alsbald Plasmolyse ein.

Biologisches.

Entleerung der Ascosporen.

Sowie die Sporen reif sind, werden sie unter der Einwirkung von Feuchtigkeit aus der Fruchtkapsel entleert. Und zwar vollzieht sich die Ejakulation in der Weise, daß plötzlich ein Ascus nach dem anderen

aus der Perithecienmündung hervorstößt, wobei die zarten Paraphysen mitgerissen werden. Anfänglich erfolgt ein Sporen-„Bombardement", indem die Ascosporen wie Geschosse aus der Perithecienöffnung hervorprotzen, unmittelbar gefolgt von den entleerten Asci. Weiterhin sieht man, wie die sporengefüllten Schläuche sich nacheinander aus der Mündung der Fruchtkapsel schieben und wie im selben Augenblicke die Ascosporen schnell hintereinander aus einem terminalen Porus des Ascus gleich Revolverschüssen aus dem Schlauche fliegen. Darnach platzt der Schlauch mit einer Längsnat und zerfließt. Im letzten Stadium der Ejakulation gleiten die Schläuche aus der Perithecienmündung hervor, um vor der Mündung nach kürzerer oder längerer Zeit zu zerfließen, wodurch die Sporen frei werden, während ein Teil der Asci, welcher den Reifezustand nicht erreicht hat, sich überhaupt nicht auflöst und mit seinem Sporeninhalte vor der Fruchtkapselöffnung lagert oder im Innern des Peritheciums verbleibt. Die hier geschilderte Art der bekanntlich verschiedenartig sich vollziehenden Sporenentleerung bei den Schlauchpilzen gehört jenem Typus an, wonach mittels eines ad hoc gebildeten terminalen Porus am freien Ascusende die Sporen in das Freie gelangen. Daß die Ausstoßung der Schläuche aus der Fruchtkapsel und die Entleerung der Sporen aus den Schläuchen ungleichmäßig vor sich geht, das hängt mit ihrer verschiedenen Quellungsfähigkeit, dem ungleich starken Turgor zusammen, wodurch plötzlich wechselnde Spannungen bedingt sind, welche das Hinausschleudern bewirken.

Verhalten des Ophiobolus-Myzels auf dem natürlichen und auf dem künstlichen Substrate.

Das vorhin beschriebene angebliche Ophiobolus-Myzel, das sich auf dem unteren Weizenhalminternodium und auf den Blattscheiden der Blätter am Halmgrunde als ein lockerer, braunschwarzer Filzüberzug befindet, trifft man bereits im Frühjahr an Weizenpflanzen, die eben in die Ähren geschossen und abgestorben waren. Und ebenso erscheint es an den Stoppeln über den Herbst und Winter hinaus, so daß man von dem Myzel als von einem perennierenden Myzel in gewissem Sinne sprechen kann[1]). Es fragt sich nun, wie gelangt der Pilz auf seinen Nähr-

[1]) Die auf die Überwinterung und Arterhaltung bezügliche Angabe in meiner Arbeit „Über Marssonia- und Hendersonia-Formen" in dieser Zeitschrift Bd. II, S. 47, daß bei Mycosphaerella sentina Fuck. (Kleb.) nicht die Konidienform dieses Pilzes, die Septoria nigerrima Fuck., sondern die Ascusform die Erhaltung der Art übernehme, da die Pyknosporen der Septoria nigerrima nicht keimfähig überwinterten, diese nach Ewert auch von Aderhold geäußerte Ansicht ist dahin zu berichtigen, daß die Pyknosporen der Septoria nigerrina tatsächlich keimfähig überwintern und selbst noch vereinzelt im

wirt und unter welcher Gestalt bringt er im Wechsel der Jahreszeiten zu? Wie ist, kurz, die Lebensweise des Pilzes? Einige Aufklärung hierüber gibt uns das Verhalten seines Myzels auf dem natürlichen und bedingterweise auch auf dem künstlichen Substrate, in der feuchten Kammer und in den Kulturen auf hergerichteten Nährböden.

In der feuchten Kammer, so bemerkt L. Hiltner[1]), „entwickelten sich auf solchen äußerlich geschwärzt erscheinenden Halmgliedern innerhalb des Halms zunächst Pykniden, die als Hendersonia herpotricha Sacc. bestimmt werden konnten. Einige Wochen später traten dann mit ihnen vergesellschaftet Perithecien auf, die als zu einer Ophiobolusart gehörig sich erwiesen". F. Krüger[2]) züchtete dahingegen im Hängetropfen aus dem mausgrauen Pilzmyzel in der Markhöhle des mit dem typischen grüngrauen Pilzbelag versehenen Weizenhalmgliedes eine Fusariumform. Und Frank benutzte nach der Angabe Krügers ein Pilzmyzel, das entweder aus dem Hohlraum fußkranker Halme entnommen war, oder von der Außenseite der letzteren bezw. von der Innenseite der sie umgebenden Blattscheide. Frank arbeitete also, wie Krüger hervorhebt, mit den typischen, Knäule bildenden graugrünen Pilzfäden. In den Kulturen wuchsen sie zunächst als farblose Fäden weiter, die sich später wieder dunkler färbten und knorrig-ästig, torulös wurden. Franks Beobachtungen über die Konidien decken sich, wie Krüger angibt, mit seinen eigenen.

Im Gegensatz zu Hiltner und in Übereinstimmung mit Frank und Krüger habe auch ich aus dem charakteristischen kastanienbraunen Pilzbelag des unteren Internodiums des fußkranken Weizenhalmes eine Fusariumform gezüchtet (Fig. 1). In der feuchten Kammer treiben die braungelben Hyphen des Dauermyzels frische, blasse Pilzfäden, welche die Fortsetzung der alten bilden. Sie zeigen weiterhin Anastomosenbildungen, Hyphenaussackungen, kolbige und glockenförmige Verbreiterungen sowie eine dichte Aneinanderlagerung der Hyphen (Fig. 3). Hierin sind die ersten plektenchymatischen Stromaanlagen zu erblicken,

---

Juni keimen, wie das Ewert (Zeitschrift f. Pflzk. Bd. XX, 1910, S. 134) nachgewiesen hat. Allerdings kommt es vor, wie ich mich überzeugt habe, daß man im April Pykniden antrifft, deren Sporen nicht keimen, wie denn überhaupt das Fruktifikationsverhalten dieses Ascomyceten in den einzelnen Jahren ungleichartig sein kann. So suchte ich in den Monaten Mai und Juni, wenn sonst die reifen Perithecien in jedem befallenen Birnblatt herdenweise anzutreffen sind, im Jahre 1912 vergeblich darnach. Ich fand nur einigemal unentwickelte. Ebenso bemerkt Ewert, daß er niemals neben den überwinternden Konidien Ascosporen der Mycosphaerella sentina feststellen konnte.

[1]) Hiltner, a. a. O. S. 38.

[2]) Krüger, a. a. O. S. 333.

durch welche knäulartige Pilzgewebskörper sich der angebliche Ophiobolus-Myzelbelag des Weizenhalminternodiums eben auszeichnet. Das junge Myzel nimmt, wie Frank schon angibt, später eine dunkle Färbung an; oft werden die Hyphenglieder auch torulös. Der Übergang in den Dauermyzelzustand beginnt mit der Membranverdickung der kolbenförmigen Hyphenaustreibungen. Ferner erscheinen an den Hyphenästen sonderbare Bildungen, die man als unentwickelte, gleichsam verkrüppelte Konidienanlagen deuten kann, aus denen wieder Hyphen treiben.

Hie und da erscheinen nun an dem in der feuchten Kammer neugebildeten Myzel des gekennzeichneten Pilzbelags des Weizenhalminternodiums kräftige Hyphenzweige, die sich zu baumartigen Fusariumfruchtständen ausbilden mit Büscheln von Makro- und Mikrokonidien, wie sie bereits von Krüger beschrieben wurden. Die großen Konidien sind sichelförmig, dorsiventral, an beiden Enden kurz zugespitzt, am Basalende fußartig, meist mit 3—5 Septen; die kleinen unausgebildeten Konidien sind länglich (Fig. 2).

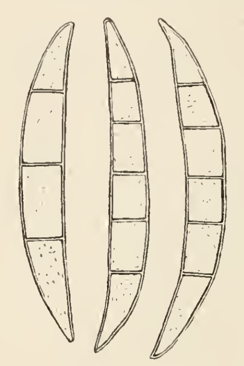


Fig. 2.
Konidien von Fusarium rubiginosum aus der Kultur von Ophiobolus herpotrichus Fr. Vergr. 700.

Aus dem Umstande, daß die Ophiobolus-Perithecien in direkter Hyphenverbindung mit dem charakteristischen Pilzbelag des fußkranken Weizenhalmes stehen, dieser durch seine Struktur sich deutlich abhebende Myzelbelag also anscheinend das Ophiobolus-Stroma ist und ferner aus der Tatsache, daß letzteres in der feuchten Kammer frische Hyphen mit einer Fusariumfruktifikation treibt, ließe sich die Zusammengehörigkeit der beiden Pilzformen folgern: ein Fusarium ist die Konidienform vom Ophiobolus herpotrichus Fries. Allein, die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, daß das Myzel zweier verschiedener Pilze, und zwar einer Fusarium- und einer Ophiobolusform, hier derartig verwebt miteinander wäre, daß die Hyphen nicht auseinander zu halten sind.

Höchst eigenartig ist sodann das Verhalten des Myzels von dem Internodium des vorzeitig abgestorbenen Weizens auf künstlichem Nährboden, wie Agar und Pflaumendekokt. Es ließ sich hier ein dreifaches Myzel unterscheiden, das man nicht für zusammengehörig halten würde, wenn nicht ihre Übergänge nachweisbar wären. Zunächst haben wir zu unterscheiden zwischen dem älteren dunkelbraunen Dauermyzel und dem blassen jungen Myzel. Letzteres besteht wiederum aus den fein-

fädigen, zarten Hyphen, wie wir sie bereits kennen lernten auf dem natürlichen Substrate; sodann aus blassen Hyphen größeren Kalibers, die ebenfalls neben dem dunklen Dauermyzel auf dem Weizenhalme vorkamen und in der feuchten Kammer als Fortsetzungen den derbwandigen, braunen Hyphen entwachsen. Und schließlich gewahren wir in der Kultur statt der plektenchymatischen braunen Gewebekörper auf dem natürlichen Substrate ebenfalls braune, knäulartige Myzelbildungen, deren Hyphen aber gleich den Cladosporiummyzel perlschnurförmig oder torulös nach

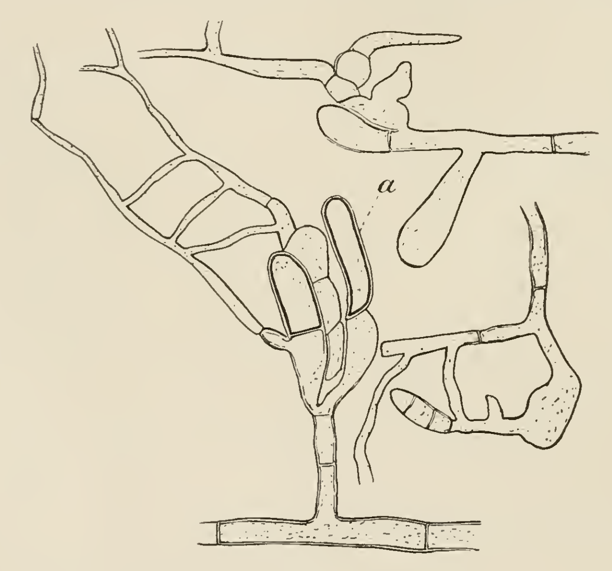


Fig. 3.
Kolbenförmige und plektenchymatische Hyphen- und unentwickelte Konidienbildungen an dem ausgetriebenen Ophiobolus-Myzelbelag vom fußkranken Weizenhalm in der feuchten Kammer; *a* derbwandige, in Dauermyzel übergehende Hyphenaustreibung. Vergr. 500.

Frank sind. Diese kugeligen braunen Hyphenglieder werden terminalwärts allmählich kleiner, um dann in gestreckte, blasse Hyphenglieder überzugehen mit feinfädigen blassen Verzweigungen. Die kugeligen braunen Hyphenglieder kann man als Chlamydosporenbildungen ansprechen, die häufig hyaline keimschlauchartige Austreibungen zeigten. Zu normalen Fusariumfruchtbildungen an dem auf das künstliche Nährsubstrat übertragenen Pilzbelag des Weizenhalmes war es indes nicht gekommen, obwohl die Kultur mehrere Monate sich überlassen blieb. Allerdings erschienen neben Mikrokonidien in dem Myzel mit den perlschnurförmigen Hyphen pyknidenartige, tief dunkelbraune Pilzgewebskörper in den verschiedensten Größen. Aus ihrer unregelmäßig ge-

stalteten Öffnung sprudelten bei Wasserzutritt sporenähnliche kleine Kügelchen, die jedoch nicht keimten.

Es sind das jedenfalls keine normalen Gebilde im Lebenszyklus des Pilzes, wie denn auch die perlschnurförmigen Hyphenbildungen und Myzelknäule in den Kulturen als Reaktionserscheinungen anzusehen sind, hervorgerufen durch anormale Lebensbedingungen, wie sie die Veränderungen und Verunreinigungen im Nährmedium, zumal durch Bakterien sowie durch die Anhäufung von Stoffwechselprodukten mit sich bringen.

Die aus dem Pilzmyzelbelag des fußkranken Weizenhalms in der Kammer hervorgegangene Fusariumform stimmt am meisten überein mit Fusarium rubiginosum Appel und Wollenweber[1]).

Kulturen und Nebenfruchtform von Ophiobolus herpotrichus.

Nach den eingangs erwähnten fehlgeschlagenen Kulturen Krügers mit Ophiobolussporen rechnete ich nicht auf ein Gedeihen meiner Sporenaussaaten, die ich im Juli, August und Oktober vorzugsweise auf Agar und Pflaumendekokt vornahm. Indes schon fünf bis acht Tage nach der Aussaat war der Nährboden gesprenkelt mit kleinen weißen Knötchen: den Keimlingen der Ophiobolussporen, durchsetzt von Bakterien. Die kleinen Organismenformen machten sich gegenseitig den Nährboden streitig. Gewiß ein interessantes Bild, wie es bei den Pilzkulturen fast regelmäßig erscheint: der Kampf um das Dasein unter den Mikroorganismen, der von manchen unserer modernen Biologen freilich geleugnet wird! Gewinnen die Bakterien im Bunde mit den Stoffwechselprodukten die Oberhand, so geht die Pilzvegetation zugrunde. Oder es kommt zu Mißbildungen, zu sonderbaren pathologischen Wachstumserscheinungen bei den Pilzkeimlingen (Fig. 4). Und im günstigeren Falle halten sich Bakterien und Pilzsaat insoweit das Gleichgewicht, als ein Teil der Pilzsämlinge gedeiht, ein anderer in der Entwicklung stecken bleibt und verkümmert. So war es bei meinen Kulturen. Übrigens lassen sich auch hier Reinkulturen gewinnen.

Zahlreiche Sporen hatten nicht gekeimt, andere wohl Keimschläuche getrieben, die aber unter ungewöhnlichen gestaltlichen Bildungen samt der Spore in eine Dauermyzelform übergingen. Und dritte, welche die mancherlei Wachstumshemmungen überwanden, waren zu einem kräftigen Myzel ausgewachsen, das, wenn auch nicht reich, so doch fruktifiziert

[1]) O. Appel und H. W. Wollenweber, Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium (Link). Arb. aus der Biolog. Anstalt für Land- und Forstwirtsch., Berlin 1910, Bd. VIII, Heft 1, S. 95.

hatte. Und zwar, um das hier gleich vorweg zu bemerken, entstanden an den Hyphenästen Fusarienkonidien.

Neben sporenhaltigen Asken und Ascosporen, die auf dem Nährsubstrat zerflossen waren, fanden sich Sporen, welche stark angeschwollen und soweit die ursprüngliche Sporenform behalten, aber nicht gekeimt hatten. Wo sporenhaltige Asken in dem Nährboden lagen, da war die eine und andere Ascospore mit einem Keimschlauch aus der Ascuswand

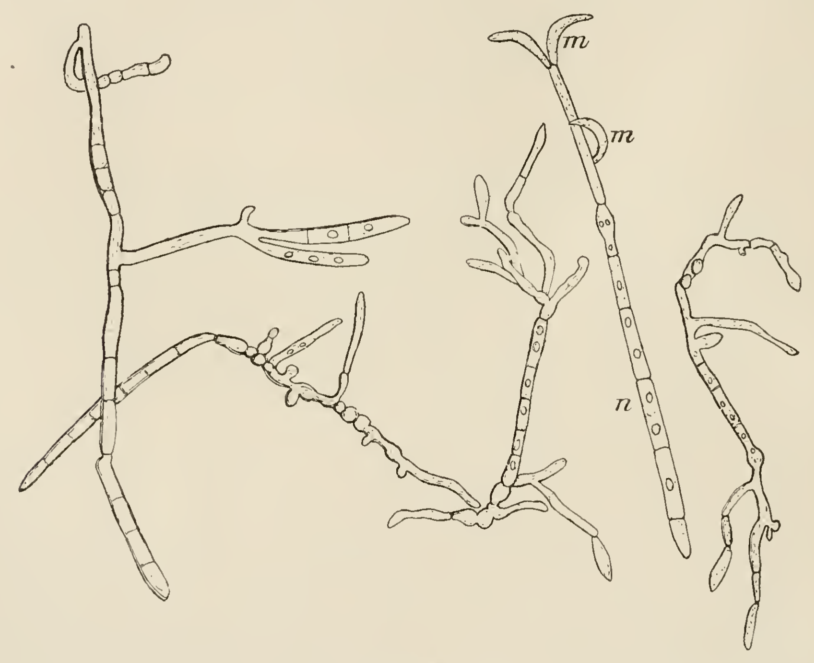


Fig. 4.
Anormale Sporenkeimlinge von Ophiobolus herpotrichus mit konidienähnlichen Sproßbildungen; *n* gekeimte Ophiobolusspore, an deren Keimschlauche sichelförmige Mikroorganismen *m* sitzen. Vergr. 500.

getreten. Die Keimung der Sporen ging sonst typisch in der Weise vor sich, daß die Ascospore sich streckte und anschwoll und aus den beiden Enden unter einem meist stumpfen Winkel einen Keimschlauch trieb. Diese Art der Keimung ist charakteristisch für die Ophiobolussporen.

Im Wasser keimten die Sporen ebenfalls. Es entstand ein feines, zartes, wenn schon nur kärgliches Myzel, dessen Wachstum nach einigen Tagen sistierte, als das Nährmedium durch Hefe und Bakterien sowie durch die Stoffwechselprodukte eine erhebliche Verunreinigung erlitt.

Eine Appressorienbildung trat so recht nicht zutage. Allerdings trieben die Sporen in den Wasserkulturen kurze Hyphenäste mit runden lappenförmigen Endstücken, die man allenfalls für Appressorien ausgeben könnte. Sonst habe ich aber in anderen Substraten derartige Bildungen nicht bemerkt. Die von Krüger erwähnten „kleinen, sichelförmig geformten, farblosen Fortsätze an den Enden des Keimschlauches", die er als Appressorien deutet, habe ich nicht gesehen, wohl aber erschienen in den Kulturen unter dieser Gestalt recht häufig nicht weiter bestimmte Mikroorganismen, die sich an die Enden der kurzen Keimschläuche setzten, daß man auf den ersten Blick glaubte, es seien Pilzbildungen: so innig war die Verbindung (Fig. 4 *n* u. *m*). Wenn sodann Mangin[1]) von kleinen sichelförmigen Gebilden, die er für Sporidien hält, angibt, daß sie in künstlichem Nährsubstrat nicht keimten, jedoch glaubt, eine Keimung auf Wurzeln lebender Weizenpflanzen beobachtet und den Keimschlauch auf der Oberfläche der Wurzelhaare entlang kriechend und die Membran durchbrechend und in das Innere eindringend gesehen zu haben — so erscheint mir das doch sehr zweifelhaft.

Die Hyphengebilde, die entstehen, wenn der Keimungsakt nicht normal mit einer kräftigen Myzelbildung verläuft, solche Keimlinge haben dann ein starres, teilweise knorrig ästiges Aussehen. Sie sind ferner von ganz ungleicher Gestalt. So nehmen die ursprünglich nadelförmigen oder fädigen Ascosporen nach ihrer starken Anschwellung eine säbelförmige Gestaltung mit scharf hervortretenden Septen an. Es kommt auch vor, daß an der ausgekeimten Spore mehrere kleinere derartige Gebilde erscheinen, die großen Fusariumsporen gleichen (Fig. 4). Man sieht auch wohl, wie von dem einen Ende der gekeimten Ascospore mit einer bauchigen Auftreibung ein derber Keimschlauch ausgeht, der sich alsbald in Dauermyzel umwandelt. Er ist von gelbgrüner Farbe, während die gekeimte Spore hyalin blieb. Oder es treten kurze tonnenartige Hyphenaustreibungen auf, die an ihrem Pole ein oder zwei längliche sporenähnliche Gebilde tragen (Fig. 4). Dann wieder verlaufen solche gelbgrünen, starren, haarartigen Hyphen von ihrer Ursprungsstätte an der gekeimten Ascospore streckenlang unverzweigt und ohne irgend welche Seitenäste, um stumpf zu endigen oder in eine hyaline Hyphe überzugehen, die sich weiterhin verzweigt und das normale Ophiobolus-Myzel abgibt. An anderen anormalen Keimlingen kommen wiederum auf kurzen Seitenästen längliche sporenähnliche Körper vor, die man vielleicht als pathologische Sporenbildungen deuten darf. Häufig

[1]) Mangin, nach einem Zitat bei Krüger a. a. O. S. 330.

keimt die gequollene und gestreckte Ophiobolusspore auch in der Weise, daß mehrere ihrer Zellen in Abständen kugelig anschwellen, während aus den beiden Sporenenden Keimschläuche hervorgehen, die zum Myzel auswachsen.

Die normale Keimung vollzieht sich sodann in dem vorhin schon angedeuteten Modus, daß die Spore anschwillt und gewöhnlich unter einem Winkel aus den beiden Sporenenden je einen Keimschlauch aussendet, der sich wie auch die Sporen zur Hyphe umwandelt, die in reichen Verzweigungen das Myzel liefert.

Wenn wir nunmehr das ausgebildete Myzel beschreiben, so stoßen uns zunächst zwei auffällig voneinander verschiedene Myzelarten in der Kultur auf. Das ist einmal das derbwandige, gelblichgrüne, dornartig ästige Dauermyzel mit teilweise gegeneinander abgerundeten Hyphen und zum andern ein feines, zartes und blasses Myzel. Das erstere entspricht dem charakteristischen Pilzmyzelbelag der fußkranken Weizenpflanzen. Zu dem Dauermyzel sind ferner zu rechnen die starren, haarförmigen, streckenlang unverzweigten Hyphentriebe, wovon vorhin die Rede war. Sie gleichen den haarförmigen Hyphenbildungen am Ophiobolus-Perithecium. Zu dem zarten, feinfädigen blassen Myzel treten, wie in den Myzelien der meisten Pilze, neben kleinkalibrigen auch großkalibrige Hyphenstränge auf. Sie erreichen jedoch meist nicht die Hyphenstärke des Dauermyzels. Die beiden Myzelarten gehen übrigens ineinander über, da die peripheren Enden des Dauermyzels in der Kultur auch vielfach frische, blasse Hyphen treiben.

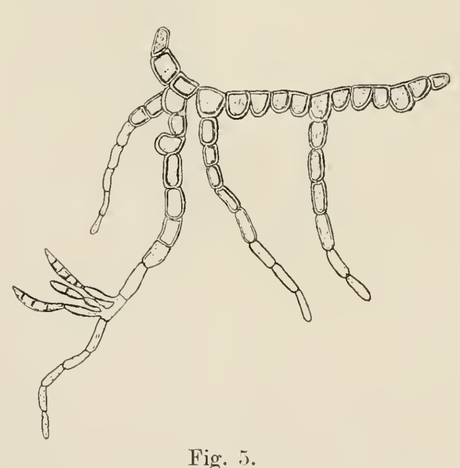


Fig. 5.
Hyphen des Dauermyzels aus der Ophiobolus-Kultur mit Fusariumkonidien an dem blassen Hyphenteile. Vergr. 500.

An kürzeren kegel- oder flaschenförmigen oder an längeren Hyphentrieben des feinfädigen Myzels aus einer Ophiobolus-Kultur vom 25. Juli fand ich nun am 9. August längliche noch unseptierte und ferner schwach sichelförmige, mit ein und zwei Septen versehene Fusariumkonidien (Fig. 5). Die Konidienbildung war verhältnismäßig spärlich am Myzel. Ein Teil der Konidien wuchs alsbald wieder zu Hyphen aus, indem die Konidien am freien Ende keimten. Um das Myzel zu einer reicheren

Fruktifikation zu bringen, übertrug ich eine am 25. August angesetzte Kultur am 3. September in sterilisiertes Wasser und nach zwei Tagen stückweise auf junge Weizenpflänzchen, die in Ziegelmehl gezogen und stark ausgekocht waren, und brachte sie in eine Petrischale, nachdem diese vorher mit Spiritus ausgewaschen und ausgeflammt war. Am 24. September zeigten zwei Halme der infizierten Weizenpflänzchen einen roten Anflug in der Nähe des aufgetragenen Myzels aus der Ophiobolus-Kultur. Wie dann die mikroskopische Untersuchung ergab, hatten sich hier Fusarienfruchtlager gebildet. Und nach weiteren, wenigen Tagen entstand eine üppige Fusariumvegetation, so daß die Halme vollständig von einem dichten mausgrauen Myzelfilz umhüllt waren, der späterhin an einigen Stellen eine ziegelrote Färbung annahm. Einmal erhielt ich indes bei diesen wiederholten Übertragungen des Myzels aus den verschiedenen Ophiobolus-Kulturen, die sonst immer dasselbe Ergebnis hatten, statt einer Fusariumvegetation den Pyknidenpilz Hendersonia herpotricha. In diesem Falle waren von einer Ophiobolus-Kultur einige Myzelstückchen am 3. September auf eine ausgekochte, in Ziegelgrus gezogene Weizenpflanze gebracht, die am 13. September mit zahlreichen Pykniden der Hendersonia herpotricha bedeckt war. Aber — und das ist bezeichnend — ein Pilzbelag wie bei den fußkranken Weizenhalmen war auf dem Halme nicht entstanden! Auch Krüger[1]) hebt bei seinen Infektionsversuchen mit Hendersonia ausdrücklich hervor, daß die abgestorbenen Versuchspflanzen an ihrer Basis reichlich mit Hendersonia-Pykniden besetzt gewesen seien, aber der für Ophiobolus charakteristische, durch oberflächlich wachsende dunkle Myzelfäden hervorgebrachte grüngraue Belag gefehlt habe. Unser abweichendes Kulturergebnis läßt sich wohl dadurch erklären, daß keine ganz reine Ophiobolussporen-Aussaat auf den Nährboden gelangte, wo alsdann an einer Stelle Hendersoniamyzel entstand, das jedoch nicht auf dem künstlichen Nährsubstrat, sondern erst nach der Übertragung auf das ausgekochte Weizenpflänzchen, also auf dem natürlichen Substrate, zur Fruchtbildung gelangte.

Die letzte Sporenaussaat mit Ophiobolus nahm ich am 16. Oktober auf Gelatine und Pflaumendekokt vor. Wie die früheren, so lief diese ebenfalls zahlreich auf. Die Sporenkeimung war indes auch hier ganz ungleich. Nach 10—14 Tagen hoben sich an mehreren Stellen des Nährbodens inmitten der meisten Pilzhäufchen dunkle Rosetten des gelbgrünen Dauermyzels ab, die weiterhin ein kräftiges Wachstum bekundeten. Ihr peripherer Teil bestand aus blassen Hyphen (Fig. 5).

[1]) Krüger, a. a. O. S. 341.

Dieses dunkle Myzel zeigte ferner die Anfänge der plektenchymatischen Pilzfädenverwebungen, wie sie charakteristisch sind für den Ophiobolus-Pilzbelag auf dem fußkranken Weizenhalm. Die Sporen hatten vielfach nur an dem einen Ende einen Keimschlauch ausgeschickt, welcher dem tonnenförmig aufgetriebenen Endstück der Ascospore entsprang und in Zickzacklinien unter Ausschickung von Seitenästen weiterhin als Hyphe den Nährboden durchsetzte. Andere Keimlinge in dem gleichen Präparat vom 16. November aus der Kultur vom 16. Oktober, die weiter in der Myzelbildung fortgeschritten waren, hatten eine kräftige sich reich verzweigende Haupthyphe, deren Glieder in Abständen kugelig waren.

Auch mit dem Ophiobolus-Myzel dieser Kultur, das keine Fusarienkonidien gebildet hatte, nahm ich Übertragungen auf zehn ausgekochte Weizenpflänzchen vor. Die erwartete Fusariumvegetation auf den infizierten Versuchspflänzchen blieb indes aus. Sie wurden durch eine überwuchernde Bakterienflora breiig und das Ophiobolusmyzel konnte dagegen nicht aufkommen. Nur kümmerliche Fäden ließen sich im Gewebe nachweisen. Aus der gleichen Kultur vom 16. Oktober übertrug ich ferner am 7. November einige Myzelstückchen auf ein ausgekochtes Weizenpflänzchen, gezogen in Ziegelmehl. Am 12. November ergab die Untersuchung der Impfstellen, daß das aufgetragene Ophiobolusmyzel hier kräftig getrieben hatte. Es zeigte einen rötlichen Anflug; eine Konidienbildung hatte sich jedoch nicht eingestellt. Wie aber war es nun mit der Entstehung des für die Fußkrankheit angeblich bezeichnenden Pilzbelags auf den Weizenpflänzchen, die mit dem Myzel aus der Ophioboluskultur bedeckt waren? Am 19. November untersuchte ich daraufhin die im August mit dem Ophiobolusmyzel der Kultur vom 25. Juli versehenen Weizenpflänzchen, die inzwischen vollständig strohig geworden waren. Und da zeigte sich denn, daß weit über die Impfstellen hinaus sich genau derselbe Pilzmyzelbelag auf den Weizenhalmen gebildet hatte wie an dem fußkranken Weizen in der freien Natur. Es waren hier die von den verschiedenen Autoren erwähnten eigenartigen Verknäulungen und plektenchymatischen Pilzfadenverflechtungen entstanden, zu deren vollständiger Bildung es in der Kultur auf künstlichem Nährboden nicht gekommen war. Sie durchsetzten die mächtig entwickelten gelbgrünen Hyphenverfilzungen. Ebenso kräftig war das von ihnen ausgehende blasse Myzel, das in Massen längliche, unseptierte Fusarienkonidien produziert hatte. Dazwischen verliefen Myzelstränge mit großen ausgebildeten Fusarienkonidien in büschelförmigem Fruchtstand.

Das Myzel hatte in dem Gewebekörper des Weizenhalms eine kolossale Entwickelung erfahren. Und zwar trat es vielfach in der Gestalt eines dicken, perlschnurförmigen, gelben Dauermyzels auf (Fig. 5), wovon blasse, große, gewundene Hyphen ausgingen, ebenfalls zumeist mit gegeneinander abgerundeten Hyphengliedern. Solche Pilzmassen nahmen sich gleichsam gedärmartig aus und füllten die Epidermiszellen des Weizenhalms vollständig aus. Es sind dies genau dieselben chlamydosporenmäßigen Hyphenbildungen, wie sie Sorauer[1]) von dem Myzel des Fusarium nivale beschreibt.

Durch unsere Kulturen ist somit wahrscheinlich, daß als Nebenfruchtform oder Konidienform zu Ophiobolus herpotrichus Fries. eine Fusariumart gehört. Aber welche? Um hierüber einen Anhalt zu gewinnen, brachte ich aus dem Streukorn in der Stoppel aufgelaufene Weizenpflänzchen von dem Acker, dem ich im Sommer die fußkranken Weizenpflanzen entnommen hatte, im November mit Wurzelballen unter eine Glasglocke in der Erwartung, daß an ihnen vielleicht eine Fusariumvegetation entstehen werde. Das war denn auch der Fall. Sowie die Blätter abstarben, erschienen üppige Fusariummyzelien, die in allem, was Fruchtstand, Konidienlagerfärbung, Form. Größen, Septenzahl der Konidien betrifft, mit jenem aus den Ascosporen von Ophiobolus herpotrichus hervorgegangenen Fusarium auf den ausgekochten Weizenhalmen übereinstimmten.

Die Fusariumart selbst aber glaube ich für Fusarium rubiginosum App. u. Wollw., für den vielbewegten Schneeschimmel ausgeben zu müssen nach der Charakterisierung, die jene Autoren von diesem Pilze geben[2]).

Die Fusarienformen der verschiedenen Nährwirte ähneln ja einander zum Verwechseln. Und sicher können sie nur durch ihre zugehörigen Schlauchformen auseinander gehalten werden, wie das auch bei manchen anderen Ascomyzeten der Fall ist. So bei den Moniliaarten und den Fusicladium-Formen unserer Obstbäume. Die zahlreichen Fusariumarten werden denn auch sicher bei gründlicheren Vergleichen und der Kenntnis ihrer Perithecienfruchtstände arg zusammenschmelzen.

Unter sich sind die reifen Konidien unseres Fusariums verschieden nach Septenzahl, 3—6 Septen, nach Größe und Gestalt, sichelförmig oder breiter und schwach dorsiventral. Ohne Fußkrümmung und mit schwach gekrümmtem Fuß sieht man die Sporen. Größen 21—42 μ : 6—7 μ.

---

[1]) Sorauer, a. a. O., S. 37.

[2]) Appel und Wollenweber, a. a. O.

Nach dem Fruchtstand erscheinen sie als einzelne endständige Konidien auf flaschenförmigen Sterigmen, die als gegenständige Hyphenäste von der fertilen Hyphe abgehen, oder sie lagern in dichten Büscheln. Sie sind also unter sich derart verschieden, daß man sie unter anderen Verhältnissen nicht für zusammengehörig erklären würde. Dazu kommen die ungleichen Entwickelungsstadien der Konidien ohne Septierung. Die Unterscheidung zwischen Makro- und Mikrokonidien ist indes, wie von O. Appel und U. W. Wollenweber[1]) schon hervorgehoben, bedeutungslos und hat nur einen deskripten Wert.

Schließlich habe ich zum Vergleich auch noch eine **Reinkultur** gemacht mit dem von Ophiobolus herpotrichus stammenden Fusarium und dem auf den jungen Weizenpflanzen im November gefundenen Fusarium. Um gleiche Kulturbedingungen zu schaffen, wurde die Züchtung der beiden Formen in ein und derselben Petrischale, aber an entfernten Stellen vorgenommen, wo je ein Myzelfädchen dem Nährboden übergeben ward. Schon nach einigen Tagen breitete sich ein weißgraues Myzel an den betreffenden Stellen aus, das später in dem Substrate eine hellrote Färbung annahm. Auch in den Kulturen der beiden Fusarienpilze mit ihren Fruchtständen fand ich keinen Unterschied. Vereinzelt traten kugelige Hyphenglieder auf, aber zu chlamydosporenähnlichen Dauermyzelbildungen, wie sie Sorauer erwähnt, war es in der am 16. November angesetzten Kultur nach zehn Tagen noch nicht gekommen. In bezug auf solche Hyphenbildungen beim Schneeschimmel bemerkt Lindau[2]): „So wissen wir nicht, ob die von Sorauer gefundenen Chlamydosporen den Pilz während des Sommers erhalten, obwohl die Aufklärung gerade dieses Punktes wichtig wäre, um das Wiederauftreten des Pilzes im Winter verständlich zu machen.“ — Hierauf ist zu erwidern, daß das Auftreten des Pilzes über das ganze Jahr hinaus gesichert ist, da er in zwei Fruchtständen erscheint. Einmal in der Peritheciumform als Ophiobolus herpotrichus und zum anderen in der Konidienform als Fusarium rubiginosum. Und wie wir sahen, vermag das chlamydosporenähnliche Ophiobolusmyzel auf dem Weizenhalme jederzeit bei entsprechender Feuchtigkeit in der Konidienform des Fusarium rubiginosum auszukeimen.

Aus unseren Züchtungsergebnissen folgt ferner, daß die eingangs zitierten Angaben von Saccardo und von L. Hiltner, zu Ophiobolus herpotrichus Fries gehöre Hendersonia herpotricha Sacc. als

[1]) Appel und Wollenweber, Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium. Arbeiten aus der K. Biolog. Anst. f. Land- und Forstwirt., Bd. VIII, 1910.

[2]) Sorauer-Lindau, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. II, 1908, S. 464.

Konidienform doch wohl unzutreffend ist. Dieser Pyknidenpilz ist ein häufiger Gast auf den Bestockungstrieben, Blättern, Blattscheiden und Halmen des Weizens. Und wie andere saprophytische Pilze, so vornehmlich Ascochyta, ist er oft vergesellschaftet mit Ophiobolus, mit dem er aber genetisch wohl nichts zu tun hat. Was Krüger[1]) über diesen Pilz angibt, das kann ich im wesentlichen bestätigen. Erwähnt sei nur, daß unter den in Ranken massenhaft aus dem Pyknidenporus quillenden stab- bis spindelförmigen Pyknosporen vereinzelt auch eiförmige austreten: vielleicht in der Entwickelung steckengebliebene Sporen. Die Pyknosporen entspringen von der Spitze der blattförmig oder dreieckig ausgezogenen Zellen der inneren Pyknidenwand. Wie Krüger, so habe auch ich zwar myzelreiche Hendersonia-Kulturen auf künstlichem Nährsubstrat bekommen, jedoch ohne Fruktifikation. Wird indes das Myzel auf das natürliche Substrat der Weizenpflanze gebracht, so erfolgt die Pyknidenbildung.

Vergleichende Betrachtungen über das vegetative und das fruktifikative Wachstum der behandelten Pilze.

Was an Ophiobolus herpotrichus und Hendersonia herpotricha Sacc. in physiologischer Hinsicht besonders interessiert, das ist ihr Verhalten in den Kulturen. Bei Ophiobolus herpotrichus ist es einmal die auffällige Erscheinung, daß in ein und demselben Nährmedium unter den gleichen äußeren Bedingungen die Ascosporen die ungleichartigsten Keimungsvorgänge zeigen. Sodann fällt die zeitlich begrenzte Keimfähigkeit auf. Obwohl Krüger nach seinen Angaben die Kulturversuche in den ungleichsten Nährmedien in den verschiedensten Konzentrationen und unter den verschiedensten Bedingungen anstellte, so erhielt er dennoch keine Kulturen. Daß dem Ophiobolus-Pilze nun etwa alle die verwendeten Nährböden nicht zugesagt hätten, das ist doch nicht gut anzunehmen. Der Mißerfolg hängt gewiß mit der Vegetationsperiode des Pilzes zusammen, denn ich habe im Juli und August üppige Vegetationen bekommen. G. Klebs[2]) ist dahingegen der Überzeugung, daß aus inneren Gründen weder Algen, noch Pilze zu bestimmten Jahreszeiten fruktifizierten. Sowie man die Kulturbedingungen eines solchen Organismus in der Hand habe, lasse er sich auch jederzeit zum Wachstum oder zur Fortpflanzung zwingen.

---

[1]) Krüger, a. a. O., S. 331.

[2]) Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze, Bd. III. Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 35, 1900, S. 163.

Die Fruktifikation unserer Pilze fiel jedoch nur spärlich auf dem einen Nährboden, auf Agar und Pflaumendekokt, aus, wo das vegetative Hyphenwachstum überwog. Und bei Hendersonia herpotricha Sacc. war dieses so stark, daß auf dem künstlichen Nährboden überhaupt keine Pyknidenbildung wie auf dem natürlichen Substrate erfolgte. Sowie jedoch das Myzel von Ophiobolus wie von Hendersonia aus dem künstlichen Nährboden auf den natürlichen, auf ausgekochte Weizenhalme überführt wurde, so trat eine reiche Fruchtbildung ein.

Woher kommt es nun, daß in ein und demselben Nährmedium unter anscheinend doch gleichen äußeren Bedingungen die einen Sporen nicht keimen, die anderen wohl keimen, aber unter Bildung von anormalen Sporen sofort in Dauermyzel übergehen, und daß eine dritte Gruppe reichlicher Myzel hervorbringt und in den typischen Entwickelungsgang des Pilzes eintritt? Und weshalb bildet Hendersonia herpotricha nicht auf dem künstlichen, sondern nur auf dem natürlichen Substrate Pykniden?

Wollen wir diese Fragen beantworten, so müssen wir schon den festen Stützpunkt der Tatsachen fahren lassen und nach dem schwankenden Seil der Hypothese greifen. Denn auf dem Wege des experimentellen Versuches zur Aufdeckung der verae causae für die fraglichen Erscheinungen liegen unübersteigbare Schwierigkeiten. Der Organismus ist ein System sich stetig verändernder Massen, abhängig in seinen Veränderungen von inneren und äußeren Bedingungen. Zu den letzteren oder den allgemeinen Lebensbedingungen nach Pfeffer gehören das Nährmedium, Licht, Luft, Temperatur, Feuchtigkeit. Wie sich diese verändern, so verändert sich auch innerhalb gewisser Grenzen der Pilzorganismus. Die willkürliche Abänderung dieser Faktoren liegt nun zwar in unserer Macht. Sie sind in der Hand des Experimentators die veränderlichen Reizmittel, worauf der Organismus in bestimmter Weise reagiert. Aber wir sehen bei den verschiedenen Variationen und Kombinationen jener Lebensbedingungen allemal nur das vollzogene Resultat im Organismus, nicht aber den gliederreichen Zusammenhang in der Kette der inneren Geschehnisse. Das wechselvolle Spiel der inneren Kräfte, die jeweilige Konstellation der inneren Bedingungen, die neben den äußeren Einwirkungen die Zustandsänderungen des Organismus hervorrufen, das alles ist unserer Erkenntnis verschlossen. Und deshalb ist es durchaus nicht gesagt, wenn wir in den Nährstoffen oder in der Temperatur, oder in dem Feuchtigkeitsgehalt, oder in der Licht- und Luftmenge eine Veränderung vornehmen, und der Pilzorganismus reagiert hierauf in einer bestimmten augenfälligen Weise, daß dieser einzelne

veränderte Lebensfaktor nun einzig und allein die wirkliche bewirkende Ursache der Formenveränderung am Organismus ist. Wir können höchstens sagen, er ist das auslösende Anfangsglied zu einer bestimmten Zustandsänderung im Organismus. Dessen müssen wir eingedenk sein bei den Erklärungsversuchen für das wechselnde Verhalten des Pilzorganismus gegenüber den veränderten Lebensbedingungen.

Weshalb nun die einen Sporen keimen und die anderen nicht unter den gleichen äußeren Lebensbedingungen, so haben wir dafür überhaupt keine physikalisch-chemische Erklärungsart. Wenn man anführt, ihre inneren Bedingungen sind nicht bei allen soweit gleichartig, daß die Sporen auf die gleichen äußeren Reize oder Einwirkungen in gleicher Weise reagieren müßten, so ist damit nicht viel gesagt. Es ist eigentlich nichts damit für die Erkenntnis gewonnen. Ebenso wenig haben wir eine befriedigende Erklärung für die Periodizität der Sporenkeimung mit nachfolgender Myzel- und Fruchtbildung. Die Sporen vieler Pilze keimen über das ganze Jahr hinaus und bilden Myzel mit Fruchtständen, während bei anderen Pilzen wieder die Sporen zeitweilig überhaupt nicht keimen oder wie bei Ophiobolus herpotrichus kurz nach der Keimung das Wachstum beenden. Schon näher kommen wir dahingegen der kausalen Beziehung bei dem pathologischen Keimungsvorgang der Ascosporen von Ophiobolus herpotrichus mit sofortiger Konidienbildung und Umwandlung in Dauermyzel. Das sind Wachstums- und Fortpflanzungserscheinungen, die sicherlich mit Ernährungsvorgängen zusammenhängen, mit Abweichungen von dem normalen Prozeß, der eine Störung und Abweichung dadurch erlitt, daß der Pilzorganismus in die Nährmedien durch eine überwuchernde Bakterienflora sowie durch die Stoffwechselprodukte in eine ungünstige Ernährungslage geriet. Er reagierte hierauf in zweifacher Weise. Einmal bildete er, obschon in etwas anormaler Form, Fortpflanzungskörper und zum anderen Dauermyzel. Die ähnliche Erscheinung beobachtete ich bei den Pyknosporen der Septoria apii Br. auf einem mit Bakterien reich durchsetzten Nährboden. Welchen Einfluß übrigens die Stoffwechselprodukte oder ähnlich wirkende künstliche Zusätze zu dem Nährsubstrat, wodurch ungünstige Veränderungen in dem Nährmedium hervorgerufen werden, auf die Fortpflanzung und weiterhin auf das Wachstum des Pilzorganismus üben, das hat in überzeugender Weise schon G. Klebs[1]) dargetan.

Und wir wissen ferner, daß bei zahlreichen Mikroorganismen, bei unzusagenden Existenzbedingungen, insonderheit bei unzusagenden Nähr-

[1]) Klebs, a. a. O., S. 112.

stoffen die Zystenbildung vor sich geht, bei Pilzen die Chlamydosporenbildung. Das sind Ruhe- und Schutzzustände des Organismus gegen weitere schädigende Einwirkungen, welche Umwandlungen unter dem Einfluß äußerer Bedingungen erfolgten. Wer einer teleologischen Auffassung der Erscheinungsweisen und Geschehnisse in der Natur huldigt, der wird in all diesen Vorgängen und dem Verhalten der Organismen unter den gegebenen Verhältnissen ein höchst zweckmäßiges Gebahren sehen zur Erhaltung der Art, da ohne diese Reaktionsweisen auf die unzusagenden äußeren Einwirkungen die Lebeformen gewiß zugrunde gehen würden.

Eine ähnliche Sporenbildung, wie vorhin geschildert, ohne besondere Myzelbildung kommt auch sonst vor. So führt Klebs[1]) an, daß die Sporen von Mucorineen (van Tieghem, Klebs), von Empusa (Brefeld), Basidiobolus (Eidam), Ascoidea (Brefeld) ohne vorhergehende Myzelbildung sofort wieder Sporen bilden können; bei Basidiobolus können selbst die Zygoten gleich aus den Sporen entstehen (Eidam).

In diesen Fällen führt die Verminderung bezw. Umänderung der Nahrung zur Einschränkung des vegetativen Wachstums und zur Hervorrufung des fruktifikativen, wie das auch bei den Blütenpflanzen (Obstbäumen) vorkommt. Klebs bringt nun diese Erscheinungen vornehmlich mit quantitativen Veränderungen der Nahrung im Zusammenhang. Er bekennt jedoch: „Sobald man zu einem wirklichen Verständnis der Einwirkungen der Außenwelt auf die inneren Vorgänge der Zellen vordringen will, stößt man sofort auf die dunkelsten und bisher nicht zu lösenden Probleme“. Aber deshalb bleibe doch die Ansicht berechtigt, daß die ersten Einwirkungen der Außenwelt in quantitativen Veränderungen der inneren Zellenvorgänge bestehen. —

Andererseits betont indes Klebs[2]), daß ein Entwickelungsgang durch das Zusammenwirken mehrerer äußerer Bedingungen veranlaßt wird, die als formative Reize bezeichnet werden könnten. Hierfür gab meine Ophiobolus-Kultur ebenfalls einen Beleg. In einer feucht gehaltenen Petrischale unterhielt ich bei einer Zimmertemperatur von 10°—12° C im September die Ophiobolus-Kultur auf ausgekochten Weizenhalmstückchen. Sie geriet nach 24 Stunden in ein ungemein üppiges Wachstum und zu einer reichen Fruktifikation in Gestalt von Fusariumsporenlagern, nachdem die Schalenwände mit heißem Wasser benetzt waren, also neben der Feuchtigkeit die Temperatur in der Schale

---

[1]) Klebs, Probleme der Entwickelung, Biolog. Centralbl. 1904, S. 493.

[2]) Klebs, a. a. O. S. 452.

zeitweilig stark erhöht ward. Ebenso kamen junge Perithecien von Ophiobolus herpotrichus in Weizenblättern binnen 24 Stunden zur Reife, die ebenfalls in einer Petrischale aufbewahrt und in gleicher Weise behandelt waren. Hier also ist, wie ja durch zahlreiche anderweitige experimentelle Ergebnisse genugsam bekannt, neben der Feuchtigkeit die erhöhte Temperatur der auslösende Reiz zu einem gesteigerten Wachstum und hinterher gesteigerter Fruchtbildung.

Auch die Wachstumserscheinung bei Hendersonia herpotricha, die auf Agar-Pflaumendekokt keine Pykniden bildete, wohl aber auf ausgekochten Weizenhalmen, hängt sicher in erster Linie mit der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Nährsubstrats zusammen. Wie Hendersonia herpotricha verhält sich ferner H. sarmentorum, die auf Hedera helix und Lonicera caprifolia Pykniden bildet, auf künstlichen Nährböden jedoch nicht. Welche Eigenschaften des Nährmediums es aber nun sind, die eine Gehäusebildung, wenn sie bei jenen Pilzen in der freien Natur auftritt, vereiteln, das ist noch eine unbeantwortete Frage. Hängt die Pyknidenbildung von der Quantität oder mehr von der Qualität der Nahrung ab? Sind die Nahrungsstoffe an sich überhaupt die einzigen äußeren und formativen Reize, die für die Auslösung der Wachstumsvorgänge zur Bildung der Pyknide in Frage kommen? Nach Klebs[1]) spielt in dem Verhältnis von Konidien- und Perithecienbildung bei Eurotium repens die Quantität und Qualität der Nahrungsstoffe keine besondere Rolle. Es übernimmt hier eine höhere Temperatur für die Perithecienbildung die Rolle des spezifischen Reizes, während nach Brefeld das Auftreten der verschiedenen Fruchtformen weniger von äußeren Umständen, als von inneren Momenten abhängig ist. Bei Pestalozzia Palmarum lassen sich nach H. Leiningers[2]) wertvollen Versuchen je nach der Konzentration der Nährmedien, wobei Luft und Feuchtigkeit als formative Reize wirken, Einzelsporen und Konidienlager wie Pseudopykniden und Pykniden erzielen. So entstehen Pykniden dieses Pilzes, der in der freien Natur keine Fruchtgehäuse bildet, durch Verminderung der Nährstoffe bei einem Myzel in Flüssigkeit. — Die Pyknidenbildung der Pestalozzia hat indes nur eine physiologische Bedeutung, aber keine systematische. Wenn daher Leininger die allseitig empfundene Notwendigkeit einer Reform des Systems der Fungi imperfecti betont und, auf seine interessanten Versuchsergebnisse Bezug

---

[1]) Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena, 1896, S. 479.

[2]) Leininger, Zur Morphologie und Physiologie der Fortpflanzung von Pestalozzia Palmarum Cooke. Centralbl. f. Bakt. II, 1911.

nehmend, eine solche Reform nur auf Grund eingehenden Studiums einzelner Arten in Kulturen ausgeführt wissen will, so ist dem zu entgegnen, daß nicht die Kulturformen der Pilze, die Züchtungen auf künstlichen Substraten, maßgebend für die Umgrenzung, Feststellung und Unterscheidung der Arten und Gattungen sein können, sondern die Formen, wie sie in der freien Natur vorkommen. Ebensowenig wie die gärtnerischen Züchtungen der Blütenpflanzen, die ja oft von der ursprünglichen Stammform in der Natur bis zur Unkenntlichkeit verschieden sind, der systematischen Einteilung der Phanerogamen zugrunde gelegt werden, ebensowenig können solches die Erzeugnisse der „Pilzgärtnerei". Unsere Pilzzüchtungen vermögen uns wohl die Zusammengehörigkeit der im System oft weit auseinanderstehenden Formen, insonderheit ihre verschiedenen Fruchtformen in Übereinstimmung mit den in der freien Natur vorkommenden aufzudecken, aber systematische Kriterien können sie nicht liefern. Da müssen sich Kultur und Natur nicht ergänzen, sondern ausschließen!

Wie G. Klebs in seinen gehaltvollen grundlegenden Untersuchungen „Über Probleme der Entwicklung" stets wieder betont, so werden die verschiedenen Entwickelungsvorgänge bei der gleichen Spezies durch quantitative Änderungen einzelner oder mehrerer Faktoren in dem für alle Vorgänge gleichen Bedingungskomplexe der Außenwelt hervorgerufen. Die äußeren Änderungen bewirken innere zunächst quantitative Änderungen, sei es mehr auslösender oder energetischer Art, wodurch der für jeden Vorgang charakteristische Komplex innerer Bedingungen herbeigeführt wird. Spezifische äußere formative Bedingungen erkennt Klebs nicht an, sondern nur quantitative Änderungen der allgemeinen Lebensbedingungen. Es brauche nicht einmal spezifische formative innere Reize zu geben, da das für irgend einen Vorgang wesentliche Verhältnis der inneren Bedingungen auf verschiedenen Wegen erreicht werden könne. —

Allein, das eine schließt das andere nicht aus. Verschiedene Ursachen können allerdings die gleiche Wirkung haben. Aber es steht der Annahme nichts entgegen, daß es für gewisse Formgestaltungen in den Wachstums- und Fortpflanzungsvorgängen bei den Pilzen äußere und auch innere spezifische formative Reize geben kann. Und zwar in dem Sinne, daß diese den ersten Anstoß zu den Zustandsänderungen im Organismus und damit zu den Wachstumsänderungen geben, die ohne solche spezifischen Reize nicht erfolgt wären. Wenn andererseits Klebs auf Grund der experimentellen Ergebnisse bei einzelnen Algen und Pilzen dem Konzentrationsgrad der Nährstoffe in erster Linie eine formative Bedeutung beimißt in den Wachstums- und Fortpflanzungsvorgängen,

so müssen wir uns doch in dieser Hinsicht vor einer Verallgemeinerung hüten und jene Auffassung von den quantitativen Änderungen nicht etwa zu einer allgemeinen Regel erheben. Ob die quantitativen äußeren Änderungen auch quantitative innere Änderungen bewirken, welche nun ihrerseits wieder den Bedingungskomplex für den jeweiligen äußeren Vorgang im Organismus schaffen, das entzieht sich ja, wie bereits früher bemerkt, vollständig unserer Erkenntnis. Welche Prozesse sich im Zellinhalte, im Gefüge des Plasma abspielen, welche Stoffumsetzungen, Lösungen und neue Verbindungen, welche osmotischen Druckverhältnisse und Oberflächenspannungen durch eine quantitative Nährstoffveränderung, durch Temperatur und Licht- oder Feuchtigkeitsänderungen bewirkt werden, darin haben wir gar keinen Einblick. Von der Chemie und Physik des lebendigen Plasma wissen wir soviel wie nichts!

Auf eine Häufung oder Verminderung von Nährstoffen, auf Quantitätsänderungen, laufen diese Prozesse im Zelleninneren zur Auslösung eines ausschließlich vegetativen oder eines fruktifikativen Wachstums bei unseren Pilzen gewiß nicht nur hinaus, sondern in gleich großem, vielleicht in noch größerem Umfange werden qualitative Veränderungen in den Zellinhalten vor sich gehen. Es werden sicherlich neue Stoffverbindungen entstehen mit neuen und anderen Eigenschaften, als sie die sich verbindenden Elemente besitzen, welche qualitativen Änderungen eben so sehr eine formative Rolle spielen werden wie die quantitativen Änderungen.

Daß allgemein eine reiche Nahrung das vegetative und eine minder reiche das fruktifikative Wachstum hervorruft, das ist in vielen Fällen ja experimentell erwiesen und auch in der freien Natur zu beobachten. Und mit dieser Tatsache hängt es auch gewiß zusammen, wenn in unseren Kulturen auf künstlichem Nährboden die Sporenbildung am Myzel aus den Askosporen von Ophiobolus herpotrichus nur dürftig ausfiel und andererseits Sporen oft schon wenige Stunden nach ihrer Entstehung weiter zur Hyphe auswuchsen. Solche Konidienhyphen waren dann hinterher kenntlich an ihren streckenweise verbreiterten Abschnitten mit kurzen Hyphengliedern. Woraus erklärt es sich aber, daß, wie M. v. Tiesenhausen[1]) berichtet, eine Oogoniumanlage mit Antheridienästen und Befruchtungsschläuchen bei Saprolegnia monoica var. glomerata sich in ein Zoosporangium umwandelt? Hängt diese sonderbare Metamorphose, wo fast am Abschluß des Entwickelungsganges zu einem auf

[1]) Tiesenhausen, Beiträge zur Kenntnis der Wasserpilze der Schweiz. Archiv f. Hydrobiologie und Planktonkunde, 1912, Heft 2. Nach einem Referat in Mycolog. Centralbl. 1912, S. 343.

komplizierte, geschlechtliche Weise zustandekommenden Fortpflanzungskörper plötzlich eine Umkehr erfolgt, gleichsam mitten im Akte, zur Bildung eines auf einfache, ungeschlechtliche Art entstehenden Fruchtkörpers, hängt dieser auffällige fruktifikative Wachstumsvorgang auch mit äußeren formativ wirkenden und in der quantitativen Veränderung der Nahrung liegenden Umständen zusammen?

Über den umändernden Einfluß äußerer Agentien auf die Organentwickelung bei den Saprolegnieen hat uns Klebs[1]) einige Aufschlüsse gegeben. Es können nur die von Flüssigkeit rings umgebenen Hyphen Fortpflanzungsorgane bilden. Aber die beiden Fortpflanzungsweisen dieser Pilze, die Zoosporen- und die Oosporenbildung, unterscheiden sich in bezug auf ihr Wasserbedürfnis. Aus einer Agargallerte von 2 % vermögen die Sporangienanlagen nicht mehr das für die Zoosporenbildung nötige Wasser zu nehmen. Die Anlagen werden zu Gemmen, während die Oogonien, die augenscheinlich weniger Wasser beanspruchen, zur Oosporenbildung gelangen.

Ob einzig und allein die ungleiche Wassermenge das Fortschreiten der Fruchtbildung oder den Rückschritt und die Umbildung der Anlage bedingt, das muß dahin gestellt bleiben. Und ferner: eine Änderung in dem bisherigen Wassergehalt bewirkt eine Störung und Ablenkung in dem vorher eingeschlagenen Gang des Triebwerks der Formenbildung, das gleichsam eine veränderte Einstellung erfährt, ein anderes, von dem bis dahin innegehaltenen abweichendes Ineinandergreifen der vielfältigen gestaltenden Kräfte. Aber weshalb nun das Ergebnis dieser Umschaltungen nicht aus dem Rahmen des fruktifikativen Wachstums herausfällt und die bisherige Fruchtanlage nicht einfach bleibt, was sie zum Zeitpunkt des Eintritts der veränderten äußeren Bedingungen war — das entzieht sich unserer Einsicht. Wir sehen, sowie wir uns auf den Pfad der empirischen Analyse der inneren Lebensvorgänge des pilzlichen Organismus begeben, wie sie in den verschiedenen Wachstums-, Gestaltungs- und Fortpflanzungsweisen zum sichtbaren Ausdruck kommen, daß uns bald ein Halt geboten wird, und der bisherige Weg der klaren Erkenntnis führt dann weiter in die Nebel der Spekulation!

Über die Ursachen der Fußkrankheit.

Weizenhalmtöter benannte Frank den *Ophiobolus herpotrichus* und Roggenhalmbrecher die *Leptosphaeria herpotrichoides*. Und die schmarotzende Tätigkeit dieser Pilze sollte nach ihm und anderen

[1]) Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. 35, 1900, S. 119.

Forschern die „Fußkrankheit" des Getreides verursachen. Sie zeigt sich in der Weise, daß die Weizen- und Roggenpflanzen zur Zeit, wenn sie in die Ähren schießen, weißfarbig werden und absterben. Die Roggenhalme, so kennzeichnet Frank[1]) das Krankheitsbild, machen den Eindruck, als seien sie durch Hagel oder Sturm dicht über der Wurzel geknickt; derartig umgebrochene Halme liegen in Menge zwischen den gesunden, noch aufrecht stehenden Pflanzen. Die Erscheinung beginnt schon zur Blütezeit, und zwar sterben zunächst die Seitenteile der erkrankten Pflanzen frühzeitig ab; alsdann durchwuchert der Pilz auch den unteren Teil der Haupthalme, die sich infolgedessen im Innern bräunen und bald so morsch werden, daß der Halm bricht, bevor die Ähren und Körner einmal entwickelt sind. Der Pilz wuchert nicht nur im Gewebe, sondern auch in der Markhöhle, die er mit einem hellgrünen Pilzmyzel erfüllt, während die außen zwischen Halm und Blattscheiden sitzenden Fäden desselben dunkel gefärbt sind und je nach ihrer Menge den erwähnten helleren und dunkleren Belag bilden. Auf diesem entwickelten sich schon im Juni die charakteristischen Perithecien, die mit ihren spitzen, halsförmigen Mündungen nach außen aus den Blattscheiden hervorragen.

Ein ähnliches Krankheitsbild entwarf Frank vom fußkranken Weizen, der jedoch nicht über der Wurzel umbricht, sonst aber den charakteristischen dunklen, hier von Ophiobolus herpotrichus herrührenden Pilzmyzelbelag am untersten Internodium hat. Ebenso weisen solche frühzeitig abgestorbenen weißhalmigen Pflanzen unreife, kleine Körner oder taube Ähren auf. Und nicht nur der Halm, sondern auch die Wurzeln werden vom Pilze durchwuchert. Während Leptosphaeria herpotrichoides die Perithecien bereits im Juni hervorgebracht hat, sind nach der Angabe der Autoren die Ophiobolus-Perithecien oft erst im Herbst oder im Laufe des Winters an den Stoppeln zu finden. Eine Angabe, die dahin zu erweitern ist, als auch schon im Juni reife Perithecien an den fußkranken Weizenhalmen auftreten.

Weiter auf die zahlreichen Arbeiten über die Fußkrankheit einzugehen, die zumal auch von ausländischen Forschern vorliegen, ist nicht unsere Absicht. Es sei nur noch der Untersuchungen L. Hiltners[2]) gedacht, der im selben Jahre (1894) wie Frank, und unabhängig von ihm, sowie auch in den letzten Jahren sich mit der Fußkrankheit des Getreides beschäftigt hat. Hiltner hat bereits 1894 die Frage aufgeworfen, ob nicht etwa eine Übertragung der Pilze durch das Saatgut

[1]) Frank, Nach einem Zitat bei Krüger, a. a. O.

[2]) Hiltner, Praktische Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz, Jahrg. 1912, S. 40.

erfolgen könne. Er ist nunmehr der Überzeugung, daß die Disposition zu der Fußkrankheit im Samenkorn gelegen ist, und daß die Witterungsverhältnisse jenes Jahres, in welchem das Getreide reift, für das Verhalten der Pflanzen im nächsten Jahre ausschlaggebend seien. So habe das Trockenjahr 1911 eine Notreife des Getreides verursacht, wodurch die Disposition der Körner zur Erkrankung geschaffen sei. Und in der Hellfarbigkeit der Roggen- und Weizenpflänzchen im Frühjahr 1912 sah Hiltner gewisse, auf Eigenschaften des Saatguts bezw. auf dessen Befall zurückzuführende krankhafte Störungen, die er als die ersten Anzeichen der Fußkrankheit deutete. Dabei ließ sich feststellen, daß vielfach im Halmgrunde solcher Pflänzchen bereits Pilzmyzel enthalten war. Und das Myzel in den Keimpflänzchen, aufgezogen in Ziegelgrus, erklärte Hiltner für Ophiobolus-Myzel bezw. für Leptosphaeria-Myzel. Eine Verwechselung mit anderen Pilzarten sei ausgeschlossen. — Aus seinen Befunden folgert nun Hiltner, daß die Erreger der Fußkrankheit durch das Saatgut übertragen werden. Sie stellen sich ein, wenn eine durch Trockenheit bedingte Notreife der Körner erfolgt. Und sie scheinen zum Teil im Innern des Korns zu sitzen. Alle Witterungs- und Bodeneinflüsse, die man bisher fast ausschließlich als die eigentlichen Ursachen geltend machte, wirkten nur fördernd oder hemmend auf diese Krankheit; die primäre Ursache liege in der Notreife des Saatguts und dessen dadurch bedingten Befall durch die Erreger der Krankheit. Und das frühzeitige Lagern des Wintergetreides sei mindestens zum Teil auf den Befall der Wurzeln durch die Erreger der Fußkrankheit zurückzuführen.

Gehen wir nunmehr zu einer kritischen Würdigung der Angaben und Ansichten der verschiedenen Autoren über. Zunächst der Pilzmyzelbelag, der charakteristisch für die Fußkrankheit nach Frank sein soll! Unser Forscher nahm ohne weiteres an, daß er aus Ophiobolus- bezw: Leptosphaeria-Myzel bestehe, eine Annahme, die, wie Krüger schon hervorhebt, nicht berechtigt ist. Denn tatsächlich setzt sich jener Pilzbelag aus dem Myzel verschiedener Pilze zusammen, so besonders aus dem Myzel von Cladosporium, wennschon die Hauptmasse aus Ophiobolus- bezw. Fusarium-Myzel bei dem Weizen besteht. Sind sodann die bezeichneten Pilze, wie Frank und andere Forscher annehmen, die Erreger der Fußkrankheit, so müssen sie, ist dies richtig, durch ihr aggressives Verhalten bei ihrem Nährwirt jene Krankheit hervorrufen. Und darüber entscheidet das Experiment! Es hat nun Krüger[1]) zahlreiche Impfungen

[1]) Krüger, a. a. O.

mit jenen Pilzen an Weizen- und Roggenpflanzen vorgenommen, indem er in verschiedener Weise die Ophiobolus- bezw. Leptosphaeria-Sporen auf die Versuchspflanzen übertrug. Die Impfungen fielen erfolglos aus. Dasselbe gilt von meinen Versuchen, worüber ich früher schon berichtete[1]). Hiernach vermögen also jene Pilze bei einer Sporeninfektion die Fußkrankheit an gesunden Getreidepflanzen nicht zu erregen. Nur ein Infektionsversuch Krügers, wo die infizierten Weizenpflänzchen ständig in einer warmen, feuchten Atmosphäre, also unter ganz anormalen äußeren Bedingungen gehalten wurden, nur dieser Versuch fiel insofern erfolgreich aus, als die „aus den Ophiobolus-Sporen" hervorgegangenen Pilzfäden in das Innere der Gewebe eindrangen. Am Halmgrunde der infizierten Pflanzen fand sich ein grüngelbes Myzel, was seinem Aussehen nach sehr wohl vom Ophiobolus herrühren konnte. Zu einem richtigen Belag, wie bei den typisch „Ophiobolus-kranken" Pflanzen war es indessen nicht gekommen". — Also auch dieser einzelne Versuch ist nicht beweiskräftig. Denn die infizierten Pflanzen starben nicht vorzeitig ab, wenn sie auch im Wachstum und in der Körnerausbildung hinter den Kontrollpflanzen zurückblieben. Es hebt Krüger auch hervor, daß sich nicht mit Bestimmtheit angeben lasse, ob jenes Krankheitsbild durch Ophiobolus hervorgerufen sei.

Wie mit den Ascosporen des Ophiobolus herpotrichus, so habe ich auch mit dem größtenteils aus Ophiobolus-Myzel bestehenden Pilzbelag des fußkranken Weizenhalms eine Reihe von Infektionen an jungen, in Ziegelgrus gezogenen Weizenpflänzchen sowie an Weizenkörnern ausgeführt. Einige davon hatten Erfolg. Eine am 25. Juli mit Stückchen jenes Pilzmyzelbelags am Halmgrunde bedeckte junge vierblätterige Weizenpflanze zeigte am 3. September an der Impfstelle braunfarbige Flecke. Zumal diese Halmstelle war faltig und welk, während der Halm bei den Kontrollpflanzen noch frisch und prall erschien. Das aufgetragene Dauermyzel hatte junge blasse Hyphen getrieben und sich rosettenartig über die Impfstelle verbreitert. Die mikroskopische Untersuchung jener Halmstelle an Querschnitten lehrte, daß Hyphen in den jungen Halm eingedrungen waren und besonders in den Interzellularen üppig wucherten. Einige Epidermiszellen, worüber die ausgetriebenen Myzelstückchen lagerten, zeigten sich zusammengedrückt und gebräunt. Und hier ließ sich eine Hyphe interzellular über die Epidermis hinaus bis in die Rindenparenchymzellen verfolgen, während an anderen Stellen wieder, obwohl dort junge kräftige Hyphen oberflächlich auf der Epi-

[1]) Voges, Deutsche Landw. Presse, Jahrg. 1912, Nr. 71 u. 72.

dermis lagerten. sie dennoch nicht eingedrungen waren. Bei den meisten Pflanzen blieb indes die Impfung erfolglos. Ebenso ergebnislos verlief eine Impfung mit dem Myzel aus einer Ophiobolus-Kultur. Am 29. Oktober hatte ich ein Stückchen kräftiges Ophiobolus-Myzel mit dem Kulturboden (Gelatine und Pflaumendekokt) auf ein Blatt einer jungen Weizenpflanze in Ziegelgrus übertragen. Das aufgetragene Myzel war am 17. November noch frisch, die Impfstelle jedoch vollständig intakt geblieben. Zu einer Fruktifikation war es nicht gekommen.

Ferner belegte ich eine Anzahl Weizenkörner in der feuchten Kammer mit jenem Pilzmyzel. Nach einigen Tagen trieb es junge Hyphen, die, wie späterhin der mikroskopische Befund auswies, in das Weizenkorn eingedrungen waren.

Es ist somit erwiesen, und zwar im Gegensatz zu dem Verhalten der Ascosporen von Ophiobolus herpotrichus, welche auf dem Oberhautgewebe der jungen infizierten Weizenpflanzen und Weizenkörner wohl über die Epidermis hinkriechende Keimschläuche trieben, die aber nicht eindrangen, daß dahingegen die frisch ausgewachsenen Hyphen des Ophiobolus-Dauermyzels in gesunde Weizenkörner Eingang finden, und zum anderen, daß sie ebenfalls in den Halmgewebekörper junger infizierter Weizenpflänzchen eindringen, die allerdings in dem feucht gehaltenen Ziegelmehl unter anormalen Wachstumsbedingungen zubrachten. Immerhin folgt aus diesen Infektionsergebnissen, daß das perennierende Ophiobolus-Myzel auf dem fußkranken Weizenhalme virulenter ist, als die Sporenkeimschläuche des Pilzes, da jenes den befallenen Nährwirt weit wirksamer anzugreifen vermag. Und dieser Umstand gibt zugleich auch einen beachtenswerten Fingerzeig für die Bekämpfung des Schädlings. Er lehrt, wie zweckmäßig zur Begegnung der Infektionsgefahr die Vernichtung der Stoppeln gleich nach dem Abernten des Ackers ist.

Woher aber, so wird man fragen, kommt es denn, daß die jungen Hyphen des Ophiobolus-Myzels leichter in den Gewebekörper des Nährwirts einzudringen vermögen, als die Ascosporenkeimschläuche? Es liegt nahe, die Ursache in der ungleichen Kräftigung der beiderlei Infektionshyphen zu suchen. Das Reservematerial der Ophiobolus-Spore für die Keimung ist bald ausgenutzt. Der zarte Keimschlauch kann sich daher nur ungleich schwieriger in das derbe Oberhautgewebe der befallenen Wirtspflanze den Eingang verschaffen, als die junge kräftige Hyphe aus dem Dauermyzel, das über einen reichen Nachschub an Nährstoffen für seinen Abkömmling verfügt. Das alles unter der Voraussetzung, daß wir es allemal nur mit Ophiobolus-Myzel zu tun haben und nicht

zugleich mit einem jenes durchsetzenden Fusarium-Myzel der fußkranken Weizenpflanze.

Unter gewissen, die Infektion begünstigenden Umständen vermag also der Ophiobolus-Pilz seinen Nährwirt mit Erfolg anzugreifen. Solche Umstände, welche den Wirtsorganismus schwächen und ihn widerstandsloser machen, sind schädigende Witterungseinflüsse, insonderheit Frost oder ständige Nässe sowie einseitige Überernährung oder unzureichende Ernährung und Befall durch andere Pilzparasiten, wie das bereits von Sorauer[1]), Remer[2]), Krüger[3]) u. a. hervorgehoben ist. Und weiter rechne ich hierher die Angriffe der Stengelälchen, Anguilluliden, die ich fast durchweg am Halmgrunde der fußkranken Weizenpflanzen fand. Es kann mir nun freilich entgegnet werden, daß die Invasion der Stengelälchen auch nach dem Pilzbefall stattfinden könne. Allerdings! Da jedoch diese Nematoden so häufig im Boden vorkommen und die jungen Weizenpflanzen gleich nach dem Auflaufen befallen, so ist anzunehmen, daß sie früher, als der Ophiobolus-Pilz am Platze sind.

Wenn andererseits L. Hiltner zu den prädisponierenden Faktoren für den Ophiobolus-Befall an erster Stelle die Notreife des Saatkorns rechnet, diese sogar für die primäre Ursache der Fußkrankheit erklärt, so fragt man sich: Worin bestehen denn nun die Schwächungen des Wirtsorganismus infolge der Notreife des Saatguts? Aus einem solchen Saatkorn ist diesjährig das üppigste und gesundeste Getreide mit reichem Körnerertrage hervorgegangen. An den Weizenpflanzen aus dem notreifen Saatkorn ließen sich keine besonderen Schwächen und Gebrechen erkennen. Daß sich schon im Frühjahr gelbblätterige Pflanzen mit Pilzmyzel im Gewebekörper zeigten, das kommt in jedem Jahre vor. Einmal mehr, das andere Mal weniger, je nach einem ungünstigeren oder günstigeren Winter. Und ob das Pilzmyzel im Halmgrunde solcher welken Pflanzen tatsächlich Ophiobolus-Myzel war, das ist doch fraglich. Ohne Fruchtstand ist mit Sicherheit gar nicht zu bestimmen, welchem Pilze ein derartiges Myzel angehört.

So fand ich Anfang November auf den jungen, reich bestockten Weizenpflanzen, die aus dem Ausfallkorn in der Stoppel aufgelaufen waren, eine mannigfaltige Pilzflora, nachdem die Pflanzen mit Wurzelballen etwa acht Tage unter einer Glasglocke zugebracht hatten. Als

---

[1]) Sorauer, Über Frostbeschädigungen am Getreide und damit in Verbindung stehende Pilzkrankheiten. Landwirt. Jahrbücher, Bd. 32, 1903.

[2]) Remer, Zitat bei Krüger, a. a. O.

[3]) Krüger, a. a. O.

die Weizenpflanzen dem Acker entnommen wurden, ließ sich auf den Blättern keinerlei Pilzbelag erkennen. Sowie jedoch die Blätter anfingen, zu vergilben, da zeigte sich an den vergilbenden Stellen ein üppiges, flockiges Myzel, das vorzugsweise dem Fusarium rubiginosum angehörte. Außerdem erschienen auf den noch grünen Blättern die gleichen Pilzbewohner wie auf den abgestorbenen Weizenblättern im Sommer: Hendersonia herpotricha Sacc., Macrosporium, Cladosporium, Ascochyta. — Unser Befund demonstriert uns nun recht instruktiv, wie das Pilzinfektionsmaterial, welches die Stoppeln und den Erdboden beherbergen, sofort auf die Saat übergeht. Und bringt diese unter ungünstigen Ernährungs- und Wachstumsverhältnissen zu, so zwar, daß der Pflanzenorganismus stark geschwächt wird, was bei jenen dem Erdboden mit Wurzelballen entnommenen jungen Pflanzen unter der Glasglocke der Fall war, so gewinnen die Pilzbewohner die Überhand über ihren geschwächten Nährwirt und richten ihn zugrunde.

Daß aber nun eine solche Schwächung auch durch das notreife Saatkorn bei der hieraus hervorgegangenen Pflanze herbeigeführt werden kann und „die Disposition zu der Fußkrankheit im Samenkorn gelegen“ sei, das bleibt so lange nur eine Behauptung, so lange nicht experimentell nachgewiesen ist, daß sich die Weizenpflanzen aus notreifem Saatkorn empfänglicher erweisen für die Krankheit, als die Pflanzen aus normalreifem Saatgut. Wenn Hiltner zur Stütze seiner Ansicht darauf verweist, daß nach dem vorigen Trockenjahre, das eine Notreife des Korns veranlaßt habe, diesjährig die Fußkrankheit besonders häufig aufgetreten sei, so möchten wir zwischen jenen beiden Tatsachen überhaupt keine ursächliche Beziehung konstruieren, sondern das strich- und geländeweise häufigere Auftreten der ominösen Krankheit mit den diesjährigen ungewöhnlich starken Frühjahrsfrösten in Zusammenhang bringen. Welche zerstörende Wirkung der Frost auf die Pflanzen übt, das ist allbekannt. Was für eine Bewandnis es jedoch mit der Notreife des Saatguts als begünstigender Umstand für den Pilzbefall und somit für die Entstehung der Fußkrankheit hat, darüber wissen wir bisher nichts Tatsächliches.

Zudem fand ich unter den gesammelten abgestorbenen Weizenpflanzen fast ebenso viele ohne irgend einen Pilzmyzelbelag als mit diesem angeblich charakteristischen Merkmal der Fußkrankheit. Wenn aber der Ophiobolus-Pilz der spezifische Erreger dieser Krankheit ist, dann müßte er auch allemal an seinem vermeintlichen Opfer anzutreffen sein, was eben nicht der Fall ist. Hieraus folgt, daß das vorzeitige Vergilben und Absterben der Weizenpflanzen zum mindesten auch auf

anderen Ursachen beruhen kann als auf dem Schmarotzertum des Ophiobolus-Pilzes. Gleiche Wirkungen haben nicht allemal gleiche Ursachen! Überdies hat Sorauer[1]) experimentell durch künstliche Frosteinwirkungen eine Taub- und Weißährigkeit herbeiführen können. Die Halme zeigten, meistens am zweiten Knoten von unten, ein Knie, woraus zu schließen sei, daß sie anfangs sich umgelegt und später von selbst wieder aufgerichtet hatten. An den vermorschten Stellen der Basis fand Sorauer ein Fusarium. Krüger[2]) wiederum berichtet, daß er durch künstlichen Frost zwar allerlei Krankheitserscheinungen, niemals aber typische „Fußkrankheit“ hervorrufen konnte. — Ob die beiden Forscher, die bei ihren Versuchen zu ungleichen Resultaten gelangten, die Versuche unter denselben Bedingungen vornahmen, das geht aus den Mitteilungen Krügers nicht hervor.

Wohl aber ist die Vermutung L. Hiltners, daß die Erreger der Fußkrankheit durch das Saatgut übertragen werden und im Innern des Kornes sitzen, insofern zutreffend, als in der Tat, wie wir vorhin sahen, das Ophiobolus-Myzel in das Weizenkorn einzudringen vermag, was übrigens auch für den Fusariumpilz gilt. Indes folgt noch nicht aus unseren gelungenen Infektionsversuchen, daß die infizierten Körner und Keimlinge nun auch jedesmal fußkranke Weizenpflanzen erzeugen müßten. Das wäre noch festzustellen! Körner und Pflanzen, die Krüger mit Ophiobolus-Sporen infizierte, lieferten, wie früher erwähnt, keine fußkranken Weizenpflanzen. Und wenn Hiltner gar meint, es bestehe auch kein Zweifel, daß diesjährig das frühzeitige Lagern des Wintergetreides teilweise auf den Befall der Wurzeln durch die Erreger der Fußkrankheit zurückzuführen sei, so erscheint mir das doch sogar sehr zweifelhaft. Denn ein ca. 20 Morgen großer Winterweizenschlag, Squarheadzüchtung, der von fußkranken Pflanzen stark durchsetzt war, vornehmlich an den Ackerrändern, wies überhaupt kein Lagerkorn auf. Richtig ist allerdings, daß man in diesem Frühjahr viel Lagerkorn in den Feldmarken antraf, mehr als sonst wohl in anderen Jahren. Aber das hatte seinen guten Grund: wie das Jahr 1911 ein ungewöhnliches Trockenjahr war, so erwies sich das Jahr 1912 als ein recht niederschlagreiches. Und die häufigen Gewitterregen, meist von schweren Böen begleitet, legten das Korn in beträchtlichem Maße nieder.

Außer Ophiobolus herpotrichus und Hendersonia herpotricha kamen auf dem geschwärzten Internodium des fußkranken Weizen-

[1]) Sorauer, a. a. O., S. 11.
[2]) Krüger, a. a. O., S. 349.

halms, besonders aber auf den Blattscheiden an der Stengelbasis die großen schwarzen Pykniden einer Ascophyta vor, ferner Angehörige von Phyllosticta, Alternaria, Septoria, Macrosporium und vor allem Cladosporium, sowie Leptosphaeria Tritici, die mit Hendersonia herpotricha Sacc. und nicht selten auch zugleich mit Ophiobolus herpotrichus erschien, was bereits Frank[1]) angibt. Auch Sorauer[2]) zählt jene Pilze auf, wobei er bemerkt, daß Cladosporium wie Fusarium wohl durch Konidienverstreuung oder bei feuchter Witterung durch Myzelausbreitung auf das gesunde Gewebe der Weizenpflanze übergehe, aber sie dringen bei normalem Blattwachstum nicht ein. Diese Angabe kann ich nur bestätigen nach meinen Befunden an jungen Weizenpflanzen. Wenn daher diese Pilze von manchen Autoren als „Schwächeparasiten" bezeichnet werden, die von ihrem Nährwirt nur Besitz ergreifen und ihn abtöten, nachdem er durch anderweitige schädigende Einwirkungen geschwächt war, so ist das gewiß zutreffend.

Einen oft recht erheblichen Bestandteil zu dem Pilzmyzelbelag auf dem fußkranken Weizenhalm liefert ferner Mucor racemosus. Über diese Tatsache finde ich keine Angaben in der mir vorliegenden Literatur. Die gelbbraunen, starken Hyphen jenes Saprophyten durchsetzen in reichen Verzweigungen das Ophiobolus-Myzel. In das frisch abgestorbene Halmgewebe der Weizenpflanze dringt dieser Pilz ein und durchzieht es nach allen Richtungen, wobei sein Myzel derbe Stränge und torulierte Hyphen sowie knäulige Verschlingungen bildet. War anfangs sein Myzel graugelblich, so nimmt es später einen braunen Farbenton an. Es gibt so leicht Veranlassung zu Verwechselungen mit den Ophiobolus-Dauermyzelsträngen.

Eine ganz andere Bedeutung gewinnt nun aber der Ophiobolus-Pilz im Gewande seiner wahrscheinlichen Nebenfruchtform als Fusarium rubiginosum, als Schneeschimmel. Hier ist er ein ausgesprochener Parasit, der selbständig und aggressiv seinen Nährwirt heimsucht. Allerdings nicht stets mit gleichem Erfolg. Wäre das der Fall, würde jedes Fusariummyzel oder jede keimende Fusariumkonidie in den Gewebekörper der betroffenen Wirtspflanze zerstörend eindringen, dann wäre es mit unserem Getreidebau vorbei. Es wiederholt sich also im Lebenszyklus unseres Pilzes der obligate Parasitismus, wie er bei manchen anderen Askomyzeten, so bei Mycosphaerella sontina und Venturia

[1]) Frank, Über die in Deutschland neu aufgetretenen Getreidepilze. Zeitschr. f. Pflzk., Jahrg. 1895, S. 11.

[2]) Sorauer, a. a. O.

inaequalis und V. pirina erscheint, wo die Schlauchform saprophytisch in den verwesenden Blättern, die Konidienform Septoria nigerrima bezw. Fusicladium dendriticum und F. pirinum in den lebenden Blättern, Zweigtrieben und Früchten der Kernobstbäume zubringt.

Was vom Ophiobolus herpotrichus, dem „Weizenhalmtöter“ als Getreideschädling gilt, das paßt im großen und ganzen auch auf Leptosphaeria herpotrichoides, den „Roggenhalmbrecher“. Im Juni bemerkte ich auf einem Roggenacker zahlreiche, vorzeitig abgestorbene und meist geknickte weißhalmige, teilweise taubährige Roggenpflanzen, die jedoch nur zum geringsten Teile ein pilzgeschwärztes unteres Halminternodium hatten. Die Knickung oder Halmbrechung der Roggenpflanzen war durch heftige Niederschläge und Windstöße herbeigeführt. Wo sich Pilzmyzel an den abgestorbenen Pflanzenteilen, besonders an den Bestockungstrieben fand, da zeigten sich wohl die Fruchtstände von Cladosporium, Phyllosticta, Ascochyta, auch eine große Sordariaform kam an den verwesten Bestockungstrieben vor, aber Leptosphaeria entdeckte ich anfangs nicht. Erst später, nach erneuter Untersuchung im Oktober, fand ich einzelne Perithecien, deren Askosporen teilweise noch im Wasser keimten. Wenn aber dieser Pilz tatsächlich der gefährliche „Roggenhalmbrecher“ ist, wofür ihn Frank ausgibt, dann müßte er weit häufiger anzutreffen sein, als ich ihn angetroffen habe. Auch Krüger[1]) berichtet von einem starken Auftreten der Fußkrankheit in Roggenschlägen. wo neben typisch fußkranken Pflanzen auch Roggenhalme vorkamen, die am Grunde zwar morsch und geknickt, aber trotzdem fast gar nicht verpilzt waren. Auch fehlten solchen Halmen die Leptosphaeria herpotrichoides-Perithecien. Und was besonders bezeichnend für eine Einschätzung und Wertung dieses Pilzes als angeblichen Erreger der Fußkrankheit des Roggens ist: es standen in nächster Nähe fast unverpilzter, weißhalmiger, abgestorbener Roggenpflanzen wieder andere, die trotz der typischen Pilzentwickelung am Halmgrunde — Belag und Perithecien — eine Länge von 135—154 cm erreicht und einen normalen Ertrag sowie wohlausgebildete Körner geliefert hatten!

Gleich den vorhin erwähnten saprophytischen Pilzen hatte sich der vermeintlich so bösartige Leptosphaeriaparasit also als ein harmloser Gast des Roggens erwiesen!

---

[1]) Krüger, a. a. O., S. 348.

Ergebnisse.

1. Der vermeintliche Erreger der „Fußkrankheit“ des Getreides, Ophiobolus herpotrichus Fries, erscheint bereits im Juni auf dem Halme, den Blättern und Bestockungstrieben am Halmgrunde abgestorbener, weißhalmiger Weizenpflanzen, und zwar in einem zum Teil plectenchymatischen Stroma, das als filziger Überzug des Nährsubstrats auftritt. In der feuchten Kammer bilden sich an den frisch ausgetriebenen Hyphen dieses Stroma die Fruchtstände des Fusarium rubiginosum App. et Wollw.

2. Auf künstlichen Nährböden keimen die Askosporen des Pilzes ganz ungleichartig. Ein Teil der Keimlinge nimmt, nachdem diese sporenähnliche Gebilde hervorgebracht haben, die Dauermyzelform an. Es entsteht ein zweifaches Myzel: ein derbwandiges, gelbgrünliches, dornartig verzweigtes Dauermyzel mit teilweise gegeneinander abgerundeten Hyphengliedern und ein feinfädiges, zartes, blasses Myzel. Das erstere entspricht dem für die Fußkrankheit der Weizenpflanzen angeblich charakteristischen Pilzmyzelbelag des unteren Halminternodiums. An der zweiten Myzelform entstehen als Fruchtbildungen Fusariumkonidien. Wird das Ophiobolus-Myzel der Kultur auf ausgekochte junge Weizenpflänzchen übertragen, so entsteht hier eine üppige Fusariumvegetation und auf den Halmen der dunkle Pilzmyzelbelag, wie er in der freien Natur bei den fußkranken Weizenpflanzen vorkommt.

3. Das aus der Kultur der Ascosporen von Ophiobolus herpotrichus Fr. hervorgegangene Fusarium ist Fusarium rubiginosum, der sogenannte Schneeschimmel. Die Nebenfruchtform von Ophiobolus herpotrichus Fr. ist höchstwahrscheinlich nicht, wie bisher angenommen, Hendersonia herpotricha Sacc., sondern Fusarium rubiginosum App. et Wollw.

4. Der gelblichgrüne Pilzmyzelbelag am unteren Internodium der vorzeitig abgestorbenen, weiß- und taubährigen Weizenpflanzen ist nicht charakteristisch für die Fußkrankheit des Getreides. Denn neben den vorzeitig abgestorbenen, weißhalmigen Weizenpflanzen mit jenem Belag erscheinen fast ebenso viele vorzeitig vergilbte, abgestorbene Pflanzen ohne den Pilzbelag. Der spezifische Erreger der Fußkrankheit ist daher Ophiobolus herpotrichus nicht. Die Krankheit kann verschiedene Ursachen haben. Vornehmlich entsteht sie wohl durch Frostschädigungen an den Getreidepflanzen. Ophiobolus herpotrichus ist kein ausgesprochener Parasit, der selbsttätig in den Gewebekörper der gesunden Weizenpflanzen einzudringen vermag. Erst nachdem diese durch

schädigende Einwirkungen anderer Art, so besonders durch Witterungseinflüsse und schmarotzende Anguilluliden geschwächt sind, findet der Pilz Eingang. Der Pilzmyzelbelag ist daher eine sekundäre Erscheinung. Er setzt sich vornehmlich zusammen aus dem Dauermyzel von Ophiobolus herpotrichus Fr. und Cladosporium herbarum Link. sowie Mucor racemosus Fresen. Durch die Verflechtung der Hyphen dieser verschiedenen Pilze entsteht der grünbraune filzige Pilzmyzelbelag am Halmgrunde der Weizenpflanzen. Ihre Myzelien sind um so schwerer auseinander zu halten, als alle drei große torulierte Hyphen bilden, die einander zum Verwechseln ähneln. Nur die Fruchtstände geben über ihre wahre Natur den Aufschluß. Gefährlicher als Ophiobolus herpotrichus für die Getreideart erweist sich die Konidienform Fusarium rubiginosum, das geschwächte Pflanzen erfolgreicher angreift.

Die vorstehende Abhandlung war bereits abgeschlossen, als die inhaltreiche Arbeit E. Schaffnits[1]) über den Schneeschimmel erschien. Soweit sie mit meinen Untersuchungen in einem Zusammenhange steht, sei hier nachtragsweise zu ihr Stellung genommen. Die Befunde des Autors beziehen sich vorzugsweise auf Fusarien des Roggens, während ich Weizen als ihre Wirtspflanzen vor mir hatte.

Wie Schaffnit feststellte, gehen unter der Bezeichnung Schneeschimmel, Fusarium nivale Sor., verschiedene Arten, die häufig miteinander verwechselt sind. F. nivale sei identisch mit dem F. nivale Ces. und diese Fusariumart ist, wie Ihssen[2]) bereits angibt und von Schaffnit[3]) bestätigt wird, die Konidienform der Nectria graminicola. Ihre Kultur gelang auf Getreideähren, nicht auf künstlichem Nährsubstrat. Obwohl die Schlauchform in der Natur häufig vorkommen soll, so habe

---

[1]) Schaffnit, Der Schneeschimmel und die übrigen durch Fusarium nivale Ces. hervorgerufenen Krankheitserscheinungen des Getreides. Landwirt. Jahrb., Bd. 43, Berlin, 1912, S. A.

[2]) Ihssen, Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk., II. Abt., Bd. 27, 1910.

[3]) In einer neueren Arbeit (Zur Systematik von Fusarium nivale bezw. seiner höheren Fruchtform. Mycolog. Centralbl., Aprilheft 1913) berichtigt Schaffnit seine obigen Angaben dahin, daß nach einer revidierten Bestimmung des Pilzes die Perithecienform von Fusarium nivale keine Nectria sei, sondern eine Calonectria, die Schaffnit C. nivalis Schaff. nennt. Gleichzeitig hatte J. Weese (Zusammenhang von Fusarium nivale mit Nectria graminicola Berk. et Br. Zeitschr. f. Gärungsphys., Bd. II, Märzheft 1913) gegenüber Ihssen den Nachweis erbracht, daß Fusarium nivale nicht zu Nectria graminicola gehören könne.

ich N. graminicola auf Weizen bislang nicht gefunden. Sie muß wohl vorzugsweise auf Roggen auftreten. Außerdem fand Schaffnit in einem Roggenbestande, worin die Fußkrankheit vorher nachgewiesen war, die Fusarienarten: F. rubiginosum App. et Wollw., F. metachroum App. et Wollw., F. metachroum var. minor. App. et Wollw.. F. rostratum App. et Wollw.. F. didymum Hart., F. subulatum App. et Wollw.

Die Fusariumart, die ich aus den Askosporen von Ophiobolus herpotrichus züchtete, und die ich hinterher im Herbst an den aus Streukorn aufgelaufenen jungen Weizenpflanzen in der Stoppel eines von der Fußkrankheit befallenen Weizenschlages fand, ist, wie angegeben, F. rubiginosum App. et Wollw.[1]), welche Form auch aus dem charakteristischen plektenchymatischen, schwarzgrünen Myzellbelag am unteren Halmgliede fußkranker Weizenpflanzen in der feuchten Kammer hervorging. Da aus den Aussaaten der Ophiobolus-Askosporen stets wieder in den verschiedenen Kulturen jenes Fusarium entstand, so muß ich vorerst, vorbehaltlich weiterer Nachprüfungen, F. rubiginosum für die Konidienform von Ophiobolus herpotrichus erklären, obschon bislang Fusariumformen nur von Nectriaceen bekannt sind. Aus der Konidienform indes wieder die Schlauchform zu züchten, das ist mir nicht gelungen. Obwohl auf dem im August mit Ophiobolusmyzel geimpften Weizenhalmen zahlreiche Fusariumfruchtlager erschienen sowie auch der für die Fußkrankheit bezeichnende dunkle Myzelbelag, worin in der freien Natur die Ophiobolus-Perithecien auftreten, so ist bis heute, Anfang April, von einer Perithecienbildung auf den fusarienbedeckten Weizenhalmstücken nichts zu erkennen. Wie Appel und Wollenweber[2]) anführen, so ist es bisher auch wenig geglückt, aus der Fusariumform wieder die Schlauchform zu gewinnen. Nur Glück habe aus einem Fusarium seine Nectria moschata gezogen und Buttler, der die Perithecien von Neocosmopora var. infecta Smith in Reinkultur erzielte. Und Appel und Wollenweber gelang die Züchtung der Schlauchform von Gibberella saubinettii auf gekochten Stengeln aus einem Fusarium, das sie F. rostratum benannten. Ferner ließen sich aus einem Kakao-Fusarium auf gekochten Kartoffelstengeln die Schlauchfrüchte der Nectria de Jonge gewinnen. Dabei trat die eigentümliche Erscheinung

[1]) Appel und Wollenweber, Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium (Link). Arbeiten aus der Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- und Forstwirtschft. Bd. VIII, 1910, Heft 1, S. 95.

[2]) Appel und Wollenweber, a. a. O. S. 62.

hervor, daß von den drei gezüchteten Stämmen nur einer Perithecien bildete. Dies ist nach Appel und Wollenweber vielleicht darauf zurückzuführen, daß dasjenige Kakaofusarium, das Schlauchfrüchte auf gekochten Kartoffelstengeln entwickelt, kein Parasit, sondern ein Saprophyt ist. Die beiden anderen Kakaofusarien indes seien Parasiten, die deswegen keine höheren Fruchtformen auf dem gekochten Substrate bilden. Man kann also, so heißt es weiter, von unseren Fusarien, für den Fall, daß sie zu Askomyzeten gehören, vermuten, daß sie Parasiten sind, weil sie ja saprophytisch keine Perithecien bilden zu können scheinen. —

Dies Kriterium für die parasitäre Natur des Pilzes kann ich nicht gelten lassen. So ist die Nectria ditissima Tul. mit ihrer Konidienform Fusarium Willkommii Lind. ein Parasit. Das heißt: Der Pilz vermag selbsttätig lebendes Pflanzengewebe anzugreifen, Andererseits fand ich im März gleichzeitig sowohl Perithecien, wie üppige Konidienfruchtlager des Pilzes in den abgestorbenen und in einer feucht gehaltenen Petrischale aufbewahrten Rindenschollen der Krebswunde eines Apfelbaums. Auf dem toten Substrate und bei saprophytischer Ernährungsweise hatten sich beide Pilzformen kräftig entwickelt! Und ferner: Venturia inaequalis C. und V. pirina Aderh., die Schlauchformen der ausgesprochen parasitären Fusikladienpilze, entstehen im Frühjahr in den verwesten Apfel- und Birnblättern, deren lebendes Gewebe von der Konidienform jener Askomyzeten befallen war. In beiden Fällen geht demnach aus dem Myzel der parasitär lebenden Konidienform bei einer saprophytischen Lebensweise auf totem Substrate die Schlauchform hervor. Wie denn überhaupt in den meisten Fällen bei den Pilzen kein scharfer Gegensatz zwischen einer saprophytischen und einer parasitischen Lebensweise besteht.

Jedenfalls treten unsere Fusarien als Parasiten auf. F. nivale Ces. habe ich an den vorhin erwähnten jungen Weizenpflänzchen indes nicht gefunden, sondern nur F. rubiginosum, mit dem jedoch F. metachroum App. et Woll. vorkam. Auch Schaffnit berichtet, daß er an dem Ernteprodukt von einem größeren Gute wiederholt als einzige Art F. rubiginosum feststellte, während F. nivale dort völlig fehlte. Es ist nun das Verdienst von Appel und Wollenweber, in den bisherigen Fusariumwirrwarr, der eine sichere Bestimmung nach den vorhandenen Artdiagnosen unmöglich machte, einmal systematische Ordnung gebracht zu haben. Maßgebend für die Artumgrenzung können aber bloß die morphologischen Merkmale sein, nicht die physiologischen und biologischen, die Schaffnit denn doch wohl zu hoch zu bemessen scheint, wenn

er dabei exemplifiziert auf die Falksche[1]) Artspaltung von Merulius lacrymans in M. sylvestris und M. domesticus, eine Trennung, die lediglich darauf basiert, daß die eine Form bei 18—22° am besten wächst, die andere bei 24—28°! Unmöglich kann man aber auf solche geringfügige Abweichungen im Verhalten gegen Temperaturgrade neue Arten gründen! Für die Fixierung der Arten ist die Konstanz ihrer Merkmale ein erstes Erfordernis. Und da sind die morphologischen zweifellos konstanter, als die physiologischen und biologischen, die oft als variierende Anpassungserscheinungen und als Ergebnisse der Wechselbeziehungen zwischen dem Pilz und seinem Substrate auftreten. So ein vorwiegend oberflächliches oder ein submerses Myzelwachstum, so das Verhalten hinsichtlich der Färbung des Myzels, der Konidien sowie des Substrats, ferner des Wachstumshabitus und der Stoffwechselprodukte. Sicher ist einstweilen, bemerken Appel und Wollenweber mit Recht, „daß die wichtigsten systematischen Werte aus der Beschaffenheit der Konidien und ihrer Tragorgane zu erwarten sind, wobei die Form am meisten bietet". Zu den untergeordneten systematischen Merkmalen gehört auch die erwähnte Färbung. Allerdings kann die reine Farbe der reifen Konidien einen wichtigen systematischen Charakter abgeben. Das gilt, wie Appel und Wollenweber betonen, für die ockerfarbigen Konidien unseres Fusarium rubiginosum. Die Färbung des Myzels ist dahingegen wechselnd und mit der Art des Substrats zusammenhängend. So war es bei meiner Kultur auf gekochten Weizenhalmen ockerfarbig, auf Gelatine und Pflaumendekokt karminrot, auf der Weizensaat in der freien Natur leuchtend karminrot wie lackiert. Dies Myzelfarbenspiel ist nun, wie Appel und Wollenweber bemerken, wenn auch nicht in systematischer, so doch in biologischer Beziehung von Interesse, auch für die Lösung der Frage nach der Zahl und der Chemie der Farbstoffe und ihrer gegenseitigen Beziehung. Es macht ferner C. Wehmer[2]) auf einen eigentümlichen Farbenwechsel bei Penicillium luteum aufmerksam. Im Reagenzglase kann man nach ihm durch abwechselndes Alkalischmachen und Ansäuern die Decken bald farblos, bald rotgelb machen und das beliebig wiederholen, was bisher von keinem Pilz anderer Pflanzenstoffe bekannt sei. — Es ist ja vielleicht möglich, daß bei einer näheren Kenntnis der Chemie der Pilzstoffe diese zur Artunterscheidung

[1]) Vgl. auch: R. Ilkewitsch, Kritik des von Dr. R. Falk herausgegebenen Werkes über die Wachstumsgesetze, Wachstumsfaktoren und Temperaturwerte der holzzerstörenden Myzelien. Botanische Zeitung, 68. Jahrg., 1910.

[2]) Wehmer, Über Variabilität und Speziesbestimmung bei Penicillium. Mykolog. Centralbl., Bd. II, 1913, S. 196.

beitragen können. Zurzeit kennen wir nur ihre Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Substrats.

Was sodann die Fusarienarten als Erreger der Fußkrankheit betrifft, so heißt es bei Schaffnit an der einen Stelle, daß durch die Eigeninfektion die Fußkrankheit an völlig grünen Pflanzen ca. drei Wochen nach der Blüte festgestellt wurde. An anderer Stelle berichtet er, daß unverwundete, gesunde Pflanzen nicht durch eine Konidienübertragung infiziert wurden, wohl aber, wenn sie verletzt waren, also eine Wundinfektion vorlag. An Roggenhalmen beobachtete er dann das gemeinsame Vorkommen des Fusariumpilzes mit Milben, durch deren Halmverwundungen dem Pilze die Infektionspforten geschafft würden. — Hieraus aber folgt, daß der Fusariumpilz also nicht die primäre Ursache der Fußkrankeit ist, was von mir behauptet wurde auf Grund von Infektionsversuchen, die ich mit dem aus Ophiobolus- bezw. Fusarium-Myzel (Fusarium rubiginosum) bestehenden Pilzbelag fußkranker Weizenhalme an jungen Weizenpflanzen im Sommer 1912 anstellte und worüber ich seinerzeit berichtete[1]). Übrigens hat schon Krüger[2]) mit den Fusariumsporen des Pilzmyzels fußkranker Weizenhalme Wundinfektionen an Weizenpflanzen erfolgreich vorgenommen. Der für die Fußkrankheit typische graugrüne Belag am Halmgrunde entstand aber nicht, und Ophiobolus-Perithecien traten später ebenfalls nicht auf.

Daß die Infektion von einem Komplex äußerer Bedingungen abhängt, ist bekannt. Wenn jedoch Schaffnit als Ergebnis seiner Kulturversuche auf geschrotenem Getreidekorn, also einem toten Substrat, in bezug auf die Abhängigkeit der Infektion vom Wassergehalt des Substrats die Gesetzmäßigkeiten ableitet, daß die Entwickelung von Fusarium nivale unter normalen Witterungsverhältnissen nur bis zu einem gewissen Entwickelungsstadium möglich sei, da der Wassergehalt des Getreidekorns bis zur Vollreife nach und nach auf ca. 12% abnimmt, und daß ferner das Stadium der Halbreife des Korns mit ca. 35% Wassergehalt für die Pilzinvasion nicht mehr in Betracht komme, da bei diesem Wassergehalt nur noch ein ganz minimales Pilzwachstum stattfinde — so wird hier für die Pilzinfektion totes und lebendes Substrat als gleichwertig betrachtet, was doch nimmermehr angeht. Außerdem sind diese angeblichen „Gesetzmäßigkeiten" in Wirklichkeit gar nicht vorhanden, da Tau und Regen dem lebenden Substrat genug Feuchtigkeit zuführen,

[1]) Voges, Zur Fußkrankheit des Getreides. Deutsch. Landw. Presse, Nr. 71 und 72, 1912.

[2]) Krüger, a. a. O. S. 342.

um eine Pilzinfektion sowohl im Zustande der Blüte, wie der Grün-, Gelb-, Voll- und Totreife des Kornes zu ermöglichen. An einer anderen Stelle seiner Arbeit[1]) sagt denn auch Schaffnit selbst, daß durch anhaltende oder wiederholte Beregnung das Korn soviel Wasser aufnimmt, daß es dem Pilze als Substrat dienen könne. Ebensowenig glücklich ist Schaffnits Unterscheidung zwischen Primär- und Sekundärinfektion. Jene soll die Infektion des noch in der Entwickelung begriffenen Kornes sein, diese die im Stadium der Gelb- bezw. Vollreife. Eine Sekundärinfektion sei in der Regel in bezug auf direkte Beschädigungen des Korns unerheblich, weil dieses in allen seinen Teilen fertig entwickelt wäre. Und der Wassergehalt des Korns sei so gering geworden, daß ein Eindringen des Pilzes in das Innere nicht mehr möglich sei! — Schon G. Gentner[2]) macht dagegen geltend, daß es ihm bei Tausenden von Getreideproben-Untersuchungen auf Fusarium nicht gelang, diese scharfe Trennung von primärer und sekundärer Infektion zu finden. — In der Tat sieht man denn auch Getreideblüten wie Körner in allen Reifestadien vom Fusariumpilz gleich stark befallen. Wo sich dieser einmal eingenistet, da wächst eben sein Myzel von der Infektionsstelle weiter und verbreitet sich von einem Korn zum andern. Damit ist jedoch nicht gesagt, daß jedes Korn der Ähre verpilzt wäre. Daß im Stadium der Gelb- oder Vollreife das Getreidekorn gegen den Fusariumbefall gefeit sein soll, weil bei seinem geringen Wassergehalt der Pilz nicht eindringen könne, so mag das in Zeiten der Dürre wie im Sommer 1911 wohl zutreffen, sonst aber nicht, da schon die Gewitterregen das reife Korn für eine Pilzbesiedelung durchfeuchten.

Wenn dann weiter unser Autor behauptet, daß für die „Primärinfektion“, also für den Pilzbefall des unentwickelten Korns, nur F. nivale in Betracht komme, während es im Gelb- und Vollreifestadium auch die Fusariumarten weniger ausgesprochen parasitären Charakters seien, welche die Infektion hervorriefen — so erscheint uns das doch recht unwahrscheinlich. Denn es ist nicht einzusehen, weshalb beispielsweise F. rubiginosum nicht Blüten und Körner in der Milchreife angreifen sollte, sondern nur die Körner in der Gelb- und Vollreife, deren Gewebekörper obendrein von derberer Struktur und daher widerstandsfähiger gegen eine Pilzinfektion ist, als die jugendlichen und zartgewebigen Organe. Umgekehrt sollten jene Fusariumarten für den Pilzbefall der unausgebildeten, jugendlichen Organe gerade in Betracht kommen.

[1]) Schaffnit, a. a. O. S. 77.

[2]) Gentner, Prakt. Bl. f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. 1913, S. 9.

Ebensowenig können wir der Behauptung Schaffnits zustimmen, daß das bis zur Reife völlig durch die Spelzen gegen die Außenatmosphäre abgeschlossene Weizenkorn relativ selten oder doch in unvergleichlich viel geringerem Maße von dem Fusarium befallen ist, als Roggen. Im Sommer 1909 waren im Hildesheimschen die Weizenähren so stark von Fusarium heimgesucht, daß der Landwirt eine erhebliche Ernteeinbuße erlitt. Es war geradezu auffällig, wie massenhaft die weißen Fusariumähren in den Weizenschlägen auftauchten. Die Ähren zeigten sich befallen in allen Stadien der Fruchtausbildung. Bei den unteren Blüten der Ährchen, der Spindel war es noch zu einer Fruchtbildung gekommen, so daß jenes zwei und drei Weizenkörner besaß, wenn schon eingeschrumpft und verpilzt. Die oberen ein oder zwei Blüten gelangten indes nicht zur Fruchtbildung. In ihnen waren der Fruchtknoten und die Staubgefäße von Fusariummyzel durchwuchert, die Spelzen bedeckt mit den ockergelben Fruchtlagern des Pilzes, dessen Art damals nicht sicher festgestellt werden konnte.

Auf die vielseitige Arbeit Schaffnits noch weiter einzugehen, ist nicht meine Absicht.

Referate.

Wollman, E. Recherches sur les microbes amylolytiques de l'intestin. Ann. Inst. Pasteur, **26**, 1912, S. 610—624.

Aus Fäces von Huhn, Kaninchen, Hund, Affe und Menschen wurden nach Anreicherung in 3- bis 3,5prozentiger Stärkelösung (in 0,5prozentiger Kochsalzlösung) zwei Typen stärkelösender Sporenbildner isoliert, die als Glykobacter proteolyticus und peptolyticus bezeichnet werden. Die zuletzt genannte Form erwies sich vorübergehend auch zur Zellulose-Lösung befähigt.

Löhnis.

Burri, R. Tätigkeitsbericht der schweizer. milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt Bern-Liebefeld pro 1911. Landw. Jahrb. d. Schweiz, **26**, 1912, S. 469—491.

Von den verschiedenen, noch nicht anderweit veröffentlichten Versuchsergebnissen erscheinen die folgenden von besonderem Interesse:

Hinsichtlich der antiseptischen Wirkung verschiedener Säuren (gegen B. coli, aërogenes, putrificus, casei ε und Bact. Güntheri) ergab sich, daß nicht die H-Ionen-Konzentration maßgebend ist, sondern, wie es scheint, das Vermögen der Säuren, die Zellwand zu durchdringen. Ungefähr gleich stark wirkten: Salz-, Salpeter-, Ameisen-, Essig-, Propion- und Milchsäure, während Schwefel-, Phosphor-, Zitronen- und Weinsäure sich in geringerem und abnehmendem Grade wirksam erwiesen. Die Reihenfolge der Säuren wurde bei den einzelnen Bakterien ziemlich gleich befunden, doch war die wirksame Konzentration sehr verschieden, z. B. wuchs B. casei noch in $^{n}/_{10}$ Milchsäure, Bact. Güntheri nicht mehr in $^{n}/_{40}$, B. aërogenes vertrug noch eben $^{n}/_{50}$, B. coli wurde schon durch $^{n}/_{75}$ gehemmt und für B. putrificus war sogar $^{n}/_{100}$ Milchsäure zu viel.

Versuche, eiweißabbauende Enzyme bei B. casei ε nachzuweisen, endeten negativ, sollen aber fortgesetzt werden.

In frischer Milch wurde recht häufig eine kleinzellige, anaërobe Sarcina gefunden, deren Verhalten im Käse näher zu prüfen sein wird. Milchkulturen blieben 14 Tage unverändert.

Auf Grund vergleichender Untersuchungen von sog. Güntheri-Stämmen und Mastitis-Streptokokken werden jene bezeichnet als „Streptokokken, bei

denen die Neigung zur Kettenbildung beinahe null ist“ und weiterhin gefolgert: „Heute sind die meisten Forscher der Ansicht, daß zwischen saprophytischen und pathogenen Streptokokken keine scharfe Grenze zu ziehen sei. Auf Grund früherer, eigener Versuche hatten wir den Eindruck gewonnen, daß vielleicht das Verhalten der zwei Gruppen gegen Rohrzucker zu einer Trennung verwendet werden könne. Nun haben diesbezügliche Versuche aber ergeben, daß allerdings sämtliche aus Mastitisfällen gezüchtete Streptokokken den Rohrzucker anzugreifen vermögen, während es unter den Güntheri-Stämmen (die als saprophytische Streptokokken aufzufassen sind) solche gibt, die sich verhalten wie die Mastitis-Streptokokken und solche, die nur Milchzucker, nicht aber Rohrzucker zerlegen.“

Propionsäurebakterien wurden reichlich im Kuhkot gefunden (bei anaërober Züchtung 4—60 Mill. Kolonien insgesamt, davon 2000—20 Mill. Propionsäurebildner pro Gramm); dagegen gelang es nicht, sie in verschiedenen Milchproben nachzuweisen. Diese Frage soll weiter verfolgt werden.

An Käsereifungskulturen wurden 1910 7493, 1911 7332 Flaschen abgegeben. Die Kulturen werden voraussichtlich demnächst in trockener Form geliefert werden können.

Unter Verwendung von Fleischgelatine und Humusagar durchgeführte Keimzählungen ergaben für Wiesenland zwischen 200000 und 4 Millionen pro Gramm schwankende Werte. Die abnorme Trockenheit im Jahre 1911 machte ihren deprimierenden Einfluß deutlich geltend, dagegen war ein Effekt der Düngung nicht wahrnehmbar. Auch eine konstante Überlegenheit des einen oder des anderen Nährbodens war nicht zu bemerken.

Bakteriologische Untersuchungen verschiedener Futtermittel lieferten keine zur Erkennung fehlerhafter Ware verwertbaren Resultate. Löhnis.

Faber, F. C. von. Das erbliche Zusammenleben von Bakterien und tropischen Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot., **51**, 1912, S. 285—375, m. 3 Tafeln u. 7 Textabb.

Die in den Blattknoten verschiedener tropischer Pflanzen (Pavetta, Ardisia, Spathodea u. a.) lebenden Bakterien finden sich allgemein auch in deren Samen und werden so von Pflanze zu Pflanze übertragen. Im mikroskopischen und kulturellen Verhalten ähneln sie den Leguminosenbakterien, doch wurde nie Beweglichkeit beobachtet. Auch die Befähigung zur Stickstoffbindung erwies sich bei Versuchen mit Reinkulturen derjenigen der Knöllchenbakterien ungefähr gleich ($2^1/_2$—$4^3/_4$ mg N pro Gramm kohlenstoffhaltiger Substanz, spez. Gummi arabicum in Blattabkochung). Versuche mit bakterienhaltigen und bakterienfreien Pflanzen erwiesen deutlich die Bedeutung der Bakterien für die Deckung des Stickstoffbedarfs. Nach einer hier publizierten Mitteilung von Klebs werden die Blätter von Pavetta indica in Britisch-Indien als Dünger benutzt. Löhnis.

Michalowsky, N. P. Einige Bemerkungen anläßlich des Wiener Präparates „Joghurtogen" und über das Vorkommen des sogenannten „Bacillus bulgaricus" in Moskauer roher Milch. Ber. bakt. agron. Stat. Moskau. **19**, 1912, S. 131—144 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

Die Prüfung des „Joghurtogen" endete im wesentlichen negativ. Die in der Gebrauchsanweisung vorgeschriebene Zimmertemperatur ist zu niedrig. Das Präparat enthielt nur wenig Laktobazillen, viel Streptokokken.

Schon bei relativ oberflächlicher Prüfung von 10 Moskauer Marktmilchproben konnten in Übereinstimmung mit Hastings und Hammer u. a. in 9 Fällen kräftig säuernde Laktobazillen nachgewiesen werden. Löhnis.

Koroleff, S. A. Über die Wechselwirkung einiger Milchsäurebakterien bei ihrer gleichzeitigen Entwicklung in der Milch. Ber. bakt.-agron. Station Moskau. **19**, 1912, S. 20—50 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

Es wurde das Verhalten eines Stammes Milchsäurestreptokokken und des sog. Bac. bulgaricus in Milch bei 30° C geprüft. Von jenem wurden stets 3 %, von diesem verschiedene Mengen (von 3 % abwärts bis 0,0003 %) Milchkultur eingeimpft. An Streptokokken gelangten hierbei 39 Millionen, an Laktobazillen bei der stärksten Impfung (3 %) 12 Millionen Keime in 1 ccm Milch. Zur Zeit der Gerinnung, nach 26 Stunden und nach 7 Tagen wurden Keimzahl (in der Thomaschen Zählkammer sowie auf der Platte) und Säuregrad (nach Thörner) ermittelt. In Reinkultur entwickelten sich die Stäbchen langsamer als die Streptokokken. Auch die Maximal-Keimzahlen waren bei den Laktobazillen niedriger, die Säuregrade jedoch höher. In Mischkulturen wurde Bac. bulgaricus unter den angegebenen Versuchsbedingungen durch die Milchsäure-Streptokokken deutlich gehemmt. In der ersten Zeit stimmten die Ergebnisse der mikroskopischen und der kulturellen Zählung nahezu überein. Dagegen wuchs nach 7 Tagen von den Streptokokken fast nichts mehr auf der Platte. Die Laktobazillen erwiesen sich zu dieser Zeit in den keimärmeren Proben noch verhältnismäßig lebenskräftig, während sie in den keimreicheren Kulturen ebenfalls meist abgestorben waren.
Löhnis.

Paraschtschuk, S. Biologische Prüfung der Güte der Milch. Ber. über die Tätigkeit der milchwirtschaftl. Unters.-Lab. an der Butter-Börse zu Petersburg f. 1910/11. S. 53 [russisch].

Nach Verf.s Beobachtungen reagieren die verschiedenen Formen von Milchsäurebakterien, wenn sie in sterilisierte Milch eingeimpft werden, mehr oder minder deutlich auf deren jeweilige Beschaffenheit. Benutzt wurden: 1. dänische Streptokokken (aus Rahmreifungs-Trockenkulturen), 2. kleine Diplokokken vom Verf. in Jaroslaw aus Rahm isoliert, 3. Diplokokken vom Güntheri-Typus, 4. russische Streptokokken, gegenüber den dänischen hauptsächlich durch die Neigung zur Bildung relativ großer, verlängerter Doppelformen ausgezeichnet, 5. Bac. bulgaricus (von Prof. Metschnikoff). Sämtliche

fünf Stämme werden in gleichen Mengen (1—2 % Reinkultur) in die zu prüfende sterilisierte Milch übertragen, diese wird bei 32—36° C aufbewahrt und sowohl die Gerinnungszeit wie das mikroskopische Bild festgestellt.

Gute Milch gerinnt nach 5—6 Stunden; es herrschen in ihr die unter 1—3 genannten Formen vor. Milch von mittelguter Beschaffenheit gerinnt ca. 2 Stunden später; die unter 2—4 aufgeführten Bakterien sind am zahlreichsten entwickelt. Noch weniger einwandfreie Milch braucht abermals eine längere Zeit zur Koagulation; hier sind besonders die Kulturen 4 und 5 zu sehen. In schlechter Milch gedeiht allein noch Bac. bulgaricus, und schließlich kommt mitunter so schlechte Milch vor, daß jede Entwicklung ausbleibt. Offenbar kommen irgend welche, das Wachstum der Milchsäurebakterien hemmende Substanzen enzymatischen oder bakteriellen Ursprunges hierbei in Frage. Sehr schlechte Milch unterdrückte sogar dann jedes Wachstum, wenn je 5 % Reinkulturen eingeimpft wurden.

Die mit Hilfe dieser Prüfung als minderwertig diagnostizierte Milch zeigte bei der Verwendung als Kindermilch entschieden ungünstige Eigenschaften, während sich andererseits rasch gerinnende, vorwiegend das Wachstum der dänischen Streptokokken begünstigende Milch vorzüglich bewährte.

A. Kolenew, Omsk.

Salus, G. Untersuchungen zur Hygiene der Kuhmilch. Arch. f. Hyg., **75**, 1912, S. 353—370.

Der Zellgehalt der Milch sowie die Agalaktie und ihre Erreger werden diskutiert und einige Angaben über den Keimgehalt der Milch beigefügt. Hoher Zellgehalt der Marktmilch sei in der Regel durch beigemischte Mastitismilch verursacht. Die Mehrzahl der geprüften Mastitis-Streptokokken erwiesen sich als avirulent (für Mäuse). Eine aseptisch gewonnene Milch (mit 20 bis 420 Keimen pro ccm) enthielt nach dem Passieren eines gewöhnlichen Filtertuches 140000 Keime pro ccm! Löhnis.

Breed, R. S. Die Wirkung der Zentrifuge und des Separators auf die Verteilung der Zellelemente in der Milch, nebst einer Kritik der zur Bestimmung der Zellenzahl in der Milch verwendeten neuen Methoden. Arch. f. Hyg., **75**, 1912, S. 383—392.

Bei der spontanen Aufrahmung gelangen fast alle Zellelemente in den Rahm. Je rascher zentrifugiert wird, umso höher steigt ihre Zahl im Sediment; bei 8000—9000 Umdrehungen in der Minute werden sie fast vollständig ausgeschleudert. Doch steht die Zahl der Zellen im Sediment in keinem konstanten Verhältnis zur Gesamtzahl. Sowohl die verschiedenen amerikanischen Zählverfahren wie die Trommsdorffsche Schleuderprobe liefern deshalb nicht genaue Resultate; das zuletzt genannte Verfahren ist nur als Schnellmethode empfehlenswert. Zwischen Zellgehalt und Menge des Sediments scheinen keine festen Relationen zu bestehen. Löhnis.

Burri, R. Reinkulturen oder Säuremischung beim Labansatz? Schweiz. Milchztg., 1912. Nr. 58, 60.

In den beiden letzten Jahren war die Nachfrage nach Liebefelder Reinkulturen nicht mehr so lebhaft als vorher, was z. T. auf die neuerdings üblich gewordene Verwendung eines von Dr. Steinegger in den Handel gebrachten Säuregemisches zur Labbereitung zurückgeführt wird. Die vor Jahren von Steinegger und Hohl ausgeführten, dem „Säurelab"-Verfahren zugrunde liegenden Versuche hatten nicht sonderlich günstige Ergebnisse gezeitigt. Neuerdings vom Verf. vorgenommene Vergleiche ließen ebenfalls durchaus keine Überlegenheit der unter Verwendung von Säurelab hergestellten gegenüber den Reinkulturkäsen erkennen. Es wird betont, daß in bezug auf Steineggers Säuregemisch die wissenschaftlichen Grundlagen noch nicht genügend geklärt und Mißerfolge nicht ausgeschlossen sind.

Löhnis.

Barthel, Chr. und Jensen, Orla. Über internationale Methoden zur Beurteilung der Milch. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 417—429.

Zur Gewinnung vergleichbarer Resultate empfehlen Verf. für Keimgehaltsbestimmungen in Milch erneut die Verwendung der von Jensen vorgeschlagenen Gelatine und für die bei 38—39° C anzusetzende Reduktionsprobe die Benutzung der von Blauenfeldt und Tvede in den Handel gebrachten Methylenblau-Tabletten. 219 in Kopenhagen und in Stockholm ausgeführte Prüfungen lieferten folgende Ergebnisse:

Reduktionszeit	Keimzahl in Milch	Keimzahl in Rahm
< 20 Min.	1 500 000 000—8 240 000	133 000 000—7 760 000
20 Min. bis 2 Stdn.	28 620 000—1 960 000	15 370 000—2 830 000
2 Std. bis $5^1/_2$ Stdn.	11 550 000— 255 000	3 840 000— 125 000
> $5^1/_2$ Stdn. . . .	3 630 000— 10 000	2 520 000— 90 000.

Danach wurden für Milch und Rahm folgende vier Klassen aufgestellt:

Klasse	I	II	III	IV
Reduktionszeit	> $5^1/_2$ Stdn.	2—$5^1/_2$ Stdn.	20 Min. bis 2 Stdn.	< 20 Min.
Keimgehalt .	< $^1/_2$ Million	$^1/_2$—4 Millionen	4—20 Millionen	> 20 Millionen
Qualität . .	gut	mittel	schlecht	sehr schlecht.

Von den Beobachtungsergebnissen fügten sich diesem Schema nicht: bei Milch 23, bei Rahm 0,8 % aller Fälle. Zur Erklärung kommen sowohl Ungenauigkeiten der Zählmethode wie ungleiche Reduktionskraft der verschiedenen Arten und Rassen von Milchbakterien in Frage. Es wird gezeigt, daß auch bei demselben Stamm die Reduktionskraft mit der Lebenskraft der Zellen wechselt. Das Ergebnis der (mit der Reduktionsprobe zu kombinierenden) Gärprobe wird nur in Klasse II und III berücksichtigt (z_3, b_2 oder b_3 erniedrigt um eine Klasse). Zeigt die Milch in Klasse I—III schlechten Geruch und Geschmack, so ist sie ebenfalls eine Klasse tiefer einzuschätzen. Pasteurisierte Milch soll sich bei der Reduktionsprobe mindestens $5^1/_2$ Stunden unverändert halten.

Löhnis.

Rosengren, L. Fr. Untersuchungen nach der Ursache des sog. „Hefegeschmacks" der Butter. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 321—329.

Der an saures Bier erinnernde, wahrscheinlich mit dem dänischen „käsesauer" identische „Hefegeschmack" schwedischer Butter wird auf die vereinte Wirkung von Hefen und Milchsäurebakterien (Streptokokken und Laktobazillen) zurückgeführt. Als häufigste Ursache kommt übermäßige Säuerung des Säureweckers in Betracht. Die Laktobazillen werden hierdurch zur Vorherrschaft gebracht, die ihrerseits das Hefewachstum begünstigen. Mit den Milchsäure-Streptokokken wachsen die Hefen so langsam, daß sie nicht schaden können. Gründliches Waschen der Butter ist wichtig. Löhnis.

Kürsteiner, J. Zur Frage der Behandlung und Verwendung des Käsereisauers. Schweiz. Milchztg., 1912, Nr. 44, Berl. Molk.-Ztg., **22**, 1912, S. 302 bis 303.

Die Bedeutung des Sauers für den Ausfall der Käse ist nicht sehr hoch einzuschätzen. Ein bakteriologisch abnormes Sauer könnte nur durch zufällige Infektionen des Labes usw. nachteilig wirken. Bei der Schottenbereitung gehen wegen der hohen Temperatur der Molken (80° C) die eventuell vorhandenen schädlichen Keime fast restlos zugrunde. Immerhin ist eine normale Beschaffenheit des Sauers wünschenswert; Verwendung des Bodensatzes (der „Sauermutter") zur Fortpflanzung und gelegentliches „Abbrühen" (zur Unterdrückung der Blähungserreger) sind hierfür zu empfehlen.

Löhnis.

Hueppe, F. Über Trockenmilch. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **64**, 1912, S. 34—44.

Bei Versuchen mit Hatmakers Apparat blieben fast nur Sporenbildner erhalten. In großen Mengen ($6^1/_2$ Millionen pro ccm) zugesetzte Prodigiosuskeime wurden sehr stark reduziert (von je 1 Million auf 6); demnach ist auch eine Abtötung der Krankheitserreger mit praktisch ausreichender Sicherheit gewährleistet. Besonders Magermilch sollte mehr getrocknet werden[1]). Löhnis.

Laxa, O. Über nicht schlagbares Obers. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 369—373.

An Fluoreszenten reicher Rahm war nicht als Schlagsahne zu gebrauchen. Die isolierte Kultur erhöhte zwar die Viskosität, veränderte aber wahrscheinlich die innere Struktur der Kolloide derart, daß die Schlagbarkeit schwand. Auch schwer zu verbutternder Rahm war reich an Fluoreszenten. Die betreffende Rasse war ziemlich azidotolerant; Ansäuern des Rahmes beseitigte deshalb den Fehler ebensowenig wie dies (wegen Kryophilie der Fluoreszenten) Abkühlung tat. Dagegen erwies sich Pasteurisation als sehr erfolgreich.

Löhnis.

---

[1]) Anm. d. Red. Vergl. auch Kossowicz, Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich, Bd. 11, 1908, S. 719 und Bd. 15, 1912, S. 737.

Budinoff, L. Einige Daten zur chemischen Zusammensetzung des Emmentaler und des russischen Schweizerkäses. Ber. bakt.-agron. Stat. Moskau, 19, 1912, S. 199—220 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

In Bestätigung seiner früheren bakteriologischen Befunde konnte Verf. jetzt auch den Nachweis erbringen, daß die chemische Zusammensetzung beider Käsesorten fast die gleiche ist. Nur die Zahlen für den Amidstickstoff waren bei den russischen Käsen etwas niedriger, für Ammoniakstickstoff ein wenig höher. Löhnis.

Burr, A., Wolff, A. und Berberich, F. M. Das Pergamentpapier des Handels. Chemische und mykologische Untersuchungen. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel, 24, 1912, S. 197—227.

Die biologische Prüfung der Papierproben wurde in der Weise ausgeführt, daß die Proben in sterile Petrischalen eingelegt und 1. mit sterilem Wasser, 2. mit sterilen Molken, 3. mit sterilem Buttermilchserum befeuchtet wurden. Zuckerreiche Papiere (rund 43 % von 58 Proben enthielten mehr als 10 % Zucker!) ließen schon im ersten Falle reichliches Schimmelwachstum erkennen, zuckerfreie Proben ergaben dagegen auch in der zweiten und dritten Versuchsreihe nur mäßige Entwicklung. Am häufigsten entwickelten sich Penicillium glaucum und olivaceum sowie ein roter Pilz, weniger häufig Mucor- und Aspergillus-Arten, selten Hefen.

Für das Verschimmeln der Butter ist naturgemäß auch deren Beschaffenheit von Einfluß. Gesalzene Butter mit normalem Feuchtigkeitsgehalt stellt keinen günstigen Nährboden für Pilze dar; doch schimmelt auch sie in zuckerreichen Papieren. Vorheriges Behandeln des Papieres mit heißem Wasser und danach mit kalter Salzlösung ist sehr empfehlenswert, doch sollte allgemein der Zuckergehalt des Pergamentpapiers 10 % nicht übersteigen. In Schweden ist für Exportbutter die Verwendung zuckerfreien Papieres obligatorisch. Demgemäß ist die Qualität der schwedischen Papiere viel besser als die der meisten deutschen Sorten. Löhnis.

Eichinger, A. Über Leguminosenanbau und Impfversuche. Der Pflanzer, 8, 1912, S. 190—219.

In gewissen ostafrikanischen Erden (roter Verwitterungslehm) unterblieb auch bei Verwendung von sonst gut wirksamen Impfkulturen aus noch nicht aufgeklärter Ursache die Knöllchenbildung mehr oder minder vollständig. Superphosphat-Düngung wirkte ein wenig, Mischung mit schwarzer Urwalderde sehr fördernd; dagegen erwiesen sich Stickstoff und Kalk als nachteilig. Die „Beibakterien" (Azotobacter) in Hiltners Kulturen gaben keinen nennenswerten Erfolg. Löhnis.

Barthel, Chr. und Rhodin, S. Eine biologische Methode zur Konservierung des Stalldüngers. Deutsche landw. Presse, 39, 1912, S. 583—584, 597—598.

Die Fortsetzung früherer Versuche bestätigte, daß durch Zusatz von 0,25—0,5 % Milchzucker (= 4 Liter Molken pro Tier und Tag) eine ansehn-

liche Stickstoff-, speziell Ammoniakkonservierung möglich ist. Gewichtsverluste und Wärmeproduktion, ebenso die Entwicklung der auf Fleischgelatine wachsenden Bakterien waren im nicht behandelten und im behandelten Dünger gleich. Dieser war aber bedeutend reicher an Milchsäurebakterien und wirkte in mehrjährigen Düngungsversuchen wesentlich günstiger. Bei einem Molkenpreis von ca. $^1/_2$ Pfennig pro Liter ist das Verfahren sehr rentabel. Löhnis.

Tottingham, W. E. Der Einfluß von Bakterien auf den löslichen Phosphor im Dünger. Chemikerztg., **36**, 1912, S. 873.

Bei der Lagerung des Düngers ging der Gehalt an löslichem Phosphor stets zurück. In einem mit Phosphat versetzten Düngergemisch wurden 24 bis 64 % des Phosphors durch Mikroorganismen assimiliert. Von dem in den Bakterienzellen vorhandenen Phosphor wurden 34—53 % als wasserlöslich befunden. Löhnis.

Burri, R. Die Beziehungen des Luftsauerstoffs zur Harnstoffgärung. Chemikerztg., **36**, 1912, S. 841.

Von fünf aus Erde und Gülle isolierten Harnstoffbakterien erwies sich zwar nur eine Art befähigt, unter exklusiv anaëroben Bedingungen zu wachsen und kräftig Ammoniak zu bilden, doch wird angenommen, daß sich jedenfalls immer genügend anaërob zersetzende Keime vorfinden werden, so daß auch unter Luftabschluß eine normale Güllereifung gewährleistet ist. Löhnis.

Fousek, A. Über die Rolle der Streptotricheen im Boden. Mitt. d. Hochschule f. Bodenkultur Wien, **1**, 1912, S. 217—244.

Die beiden häufigsten Arten Streptothrix chromogena und alba wurden hinsichtlich ihres Vorkommens und ihrer Tätigkeit im Boden eingehend studiert. Der auf sie entfallende (auf Gelatineplatten ermittelte) Anteil an der Gesamtkeimzahl schwankte je nach Bodenart und Jahreszeit zwischen rund 10 und 30 %; Waldböden lieferten die höchsten Werte. Wurzeln mit absterbenden Zellpartien, in Zersetzung begriffene Getreidestoppeln sowie faulende Blätter sind die bevorzugten Standorte. Aus Pepton und Blutmehl wurden reichliche Ammoniakmengen abgespalten; Harnstoff und Harnsäure dienten ebenso wie Nitrate und Ammonsalze als N-Quelle. Der C-Bedarf konnte außer durch verschiedene Zuckerarten auch durch Stärke und Zellulose gedeckt werden. Mit gemahlenem Stroh vermischte sterilisierte Erde nahm ebenso wie die Strohreste unter der Einwirkung der Aktinomyceten eine dunklere Farbe an, der Gehalt an löslichen Humusstoffen stieg, desgleichen war eine lebhafte Ammoniakbildung zu konstatieren. In je 100 g Erde wurden an Ammon-N in Milligramm gefunden:

sterile Erde		geimpfte Erde	
ohne Stroh	mit Stroh	ohne Stroh	mit Stroh
1,63—1,82	1,53—1,79	6,95—8,26	16,42—18,04

N-Bindungs-Versuche lieferten keine positiven Resultate. In Vegetationsversuchen wirkte bei Gramineen, Cruciferen und Leguminosen eine Impfung mit Streptotricheen entschieden günstig, namentlich wurde auch die Knöllchenbildung gefördert. Löhnis.

Pfeiffer, Th. und Blanck, E. Der Einfluß einer Zuckergabe auf die Ertragsfähigkeit eines Bodens. Mitteil. landw. Instit. Breslau, **6**, 1912, S. 601—612.

Zucker-Düngungs-Parzellen-Versuche ergaben im ersten Jahre geringe Minder-, im zweiten Jahre geringe Mehrerträge. Obwohl die Versuche nur mit einer Substanz auf einem Boden durchgeführt wurden und sie in bezug auf die Genauigkeit der Ergebnisse ziemlich viel zu wünschen übrig lassen, wird gleichwohl in bekannter Weise daraus gefolgert: „Es liegt auf der Hand, daß unsere Versuche abermals der Zuckerdüngung oder allgemein gesagt (!), der Anwendung organischer Substanzen nicht die Bedeutung beizumessen gestatten, die ihr vielfach zugesprochen wird.“ Löhnis.

Boullanger, E. et Dugardin, M. Mécanisme de l'action fertilisante du soufre. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris, **155**, 1912, S. 327—329.

Schwache Beigaben von Schwefelblüte förderten die Ammoniakbildung aus Pepton und Blutmehl sehr deutlich; auch die Nitrifikation wurde in Erde erhöht, während der Vorrat an Gesamtstickstoff unverändert blieb. Auf eine ertragsteigernde Wirkung des Schwefels ist also nur bei ausgiebiger Düngung zu rechnen. Löhnis.

Nitsche, P. Die Stickstoffquellen der Landwirtschaft und die Verwertung der Sulfitabfallauge. Zeitschr. f. angew. Chemie, **25**, 1912, S. 2058—2061.

Es wurde mit gutem Erfolge versucht, stickstoffbindende Bakterien auf durch Kalkzusatz schwach alkalisch gemachter Ablauge der Sulfitzellulosefabrikation zu züchten. Über längere Zeit fortgesetzte Stickstoffbindungs-Experimente sowie über Düngungsversuche mit getrockneter Ablauge soll nächstens berichtet werden. Verf. hofft, daß der Landwirtschaft durch ein zum Patent angemeldetes Verfahren eine neue, billige Stickstoffquelle erschlossen und zugleich der betreffende Teil der Abwasserfrage gelöst werde.

In einer a. a. O. S. 2348 veröffentlichten Bemerkung zu dieser Arbeit bestätigt Dr. H. Nördlinger, Chemische Fabrik Flörsheim, des Verf.s Beobachtungen. Eigene, bereits 1910 durchgeführte Versuche führten Nördlinger zur Ausarbeitung eines analogen Verfahrens, auf das ihm bereits im Frühjahr 1912 die D. R. P. 237583 und 247119 erteilt worden sind. Löhnis.

Budinoff, L. Bakteriologische Analysen verschiedener Bakterienpräparate zur Bodenimpfung. Ber. bakt.-agron. Stat. Moskau, **19**, 1912, S. 67 bis 103 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

Die flüssigen Kulturen des U. S. Department of Agriculture enthielten pro Kubikzentimeter 25—129 Millionen von auf Bohnenagar wachsenden

Keimen, die im wesentlichen eine Reinkultur von Knöllchenbakterien darstellten. Die nach dem beigegebenen Rezept bereitete Nährlösung erwies sich als für die Anreicherung dieser Organismen sehr geeignet.

Azotogen enthielt ca. 50 % Knöllchenbakterien; auf Bohnenagar erwuchsen 25—256 Millionen Kolonien pro Gramm. Nitragin von Kühn, Nitrobacterine von Bottomley und Nitroculture von Moore waren relativ keimarm; Knöllchenbakterien fehlten ganz. Löhnis.

Severin, S. A. Ein kollektiver Prüfungsversuch von Bakterien-Präparaten zur Bodenimpfung. Ber. bakt.-agron. Stat. Moskau, **19**, 1912, S. 104—130 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

Die Station führte in Gemeinschaft mit einer größeren Zahl russischer Versuchsstationen dreijährige Impfversuche in Gefäßen und auf dem Felde aus. Geprüft wurden: flüssiges und trockenes „Nitragin“ der Moskauer Station, Nitroculture von Moore, flüssige Kulturen des U. S. Department of Agriculture und Nitrobacterine von Bottomley. Das zuletzt genannte Präparat wurde außer bei Leguminosen auch in seinem Verhalten zu Gerste, Mais und Baumwolle geprüft. Die erlangten Resultate sind ziemlich überraschend, insofern bei den Gefäßversuchen gar keine Wirkung der verschiedenen Impfstoffe zu konstatieren war, dagegen auf dem Felde in 53 % aller Fälle Ertragssteigerungen verzeichnet wurden (flüssige amerikanische Kulturen 75 %, trockenes Moskauer Nitragin 64 %, Nitroculture 60 %, flüssiges Moskauer Nitragin 57 %, Nitrobacterine 47 %). Löhnis.

Wojtkiewicz, A. und Kolenew, A. Eine bakteriologische Bodenanalyse. Ber. bakt.-agron. Stat. Moskau, **19**, 1912, S. 145—198 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

Eine größere Zahl von Erdproben aus dem südlichen Teil des Gouvernements Samara wurden hinsichtlich ihrer Keimzahl (mit Hilfe der Plattenmethode) sowie im Umsetzungsversuch (Pepton-, Harnstoff-, Salpeter- sowie Zucker-Zersetzung, Salpeter-Bildung und Stickstoffixierung) einer vergleichenden Prüfung unterzogen. Die Keimzahlen stellten sich pro Gramm feuchte Erde:

	in Salzböden	Halbwüste	Limanboden
auf	700 000—20 000 000	700 000—1 650 000	320 000—1 600 000

Die Ergebnisse der Umsetzungsversuche befriedigten wenig. Nur die bei Zimmertemperatur gehaltenen Stickstoffbindungsversuche in Mannitlösung ergaben deutliche Unterschiede für kultiviertes und für nicht bearbeitetes Land. Die übrigen Versuche lieferten in allen Fällen fast die gleichen Werte. Wie es scheint, handelt es sich um die zur Beurteilung allerdings nicht brauchbaren Endzahlen; da die Experimente (aus nicht erkennbarem Grunde) bei 30° C angestellt wurden, kann der unerwünscht rasche Ablauf der verschiedenen Umsetzungen kaum überraschen. Löhnis.

Mockeridge, Fl. A. Some conditions influencing the fixation of nitrogen by Azotobacter and the growth of the organism. Ann. of Botany, **26**, 1912, S. 871—887.

Am besten bewährte sich folgende Modifikation der von Bottomley zur Azotobacter-Kultur benutzten Nährlösung: 1000 aq. dest., 10 Mannit, 2 K_2HPO_4, 0,2 $MgSO_4$, 2—4 Thomasmehl. Pro Gramm Mannit wurde in 7 Tagen bei 28° C 12 mg Stickstoff fixiert. Die höchsten Gewinne (bis 14 mg) wurden in mit der angegebenen Nährlösung getränkten Sandkulturen erzielt. Natronsalze wirkten ungünstig. Mit dem Alter der Kulturen sank die Stickstoffbindungs-Fähigkeit. Löhnis.

Esten, W. M. and Mason, C. J. Silage fermentation. Connecticut Storrs Stat. Bull., **70**, 1912, 40 S., m. 3 Fig.

Fünfjährige Temperatur-Beobachtungen lehrten in Übereinstimmung mit speziellen Versuchen, daß als Optimaltemperaturen diejenigen zwischen 75—85° F (25—30° C) anzusehen sind. Die in diesem Falle einsetzende rasche Säuerung unterdrückt die unerwünschten Organismen vollkommener als dies bei 65—70° F der Fall ist. Unterhalb 65° F entsteht ein minderwertiges Material. Andererseits sind Temperaturen über 100° F (38° C) nach der Ansicht der Verff., die hierin von den älteren Theorien über den Silage-Prozeß grundsätzlich abweichen, gleichbedeutend mit „silage destruction and not silage formation". Die Kurven der Erwärmung und des Bakterien-Wachstums gingen ziemlich parallel. Die Säurebildner wechselten von Jahr zu Jahr. Im Durchschnitt stellte sich die Azidität auf 1 % (vom Gesamtgewicht). Milchsäure und Essigsäure herrschten vor; auch Bernsteinsäure war vorhanden. Im Saft konnten wenigstens 7 Hefen nachgewiesen werden.

Alle Futterstoffe können ensiliert werden, vorausgesetzt, daß genügend Zucker zu ausreichender Säurebildung vorhanden ist. Runde Holzsilos sind solchen von Stein oder Zement vorzuziehen, da diese die Wärme zu rasch ableiten. Löhnis.

1. **Lipman, J. G., Blair, A. W., Owen, J. L. and MacLean, H. C. The availability of nitrogenous materials as measured by ammonification.** New Jersey Agric. Exp. Stat., Bull. **246** 1912, 36 S.
2. — — — — **Experiments on ammonia formation in the presence of carbohydrates and of other non-nitrogenous organic matter.** Bull. **247**, 1912, 22 S.
3. — — — — **Experiments relating to the possible influence of Protozoa on ammonification in the soil.** Bull. **248**, 1912, 19 S.
4. — — — — **Conditions affecting the availability of nitrogen compounds in vegetation experiments.** Bull. **249**, 1912, 23 S.
5. — — — — **Miscellaneous vegetation experiments.** Bull. **250**, 1912, 19 S.

Zu 1. In Fortsetzung früherer Versuche wurde eine große Zahl verschiedener Proben organischer Handelsdünger (Blutmehl, Fischmehl, Tankage

usw.) im Erd-Umsetzungsversuch in bezug auf die Intensität der Ammoniakbildung geprüft. Hoch- und niedrigwertige Sorten konnten hierbei erkannt werden, dagegen ließ die Übereinstimmung zwischen diesen Ergebnissen und denjenigen der in der vierten Arbeit besprochenen Gefäß-Düngungsversuche recht viel zu wünschen übrig. Zugaben von $NaNO_3$ förderten die Ammoniakbildung. $(NH_4)_2SO_4$ wirkte hemmend. $CuSO_4$, $ZnSO_4$ und $MnSO_4$ ließen keinen deutlichen Einfluß erkennen. $FeSO_4$ und $CaSO_4$ begünstigte die Ammoniakbildung aus Blutmehl, nicht dagegen aus Baumwollsaatmehl. Kuh- und Pferdedünger-Aufschwemmungen (1—5 ccm pro 100 g Erde) setzten die Ammoniakzahl herab.

Zu 2. Durch Beigabe geringer Mengen (bis 0,5 %) Stärke und Saccharose wurde die Ammoniakbildung verstärkt, während größere Quantitäten (2 % und mehr) Dextrose, Saccharose, Laktose, Maltose, Mannit, Weizenmehl usw. zu Depressionen der Ammoniakzahlen führten. Kalkzusatz wirkte dem nicht entgegen. Es handelt sich also nicht um Säurebildung, sondern jedenfalls um Ammonassimilation.

Zu 3. Mit nicht erhitzten bezw. mit filtrierten oder mit pasteurisierten Erdextrakten sowie mit erhitzten und nicht erhitzten (augenscheinlich gesunden) Erden angestellte Versuche lieferten Resultate, die mit den von E. J. Russell und dessen Mitarbeitern (für müde Böden) erlangten Befunde nicht übereinstimmten resp. nicht für die (für müde Böden) aufgestellte Protozoen-Theorie verwertbar sind.

Zu 4. Dextrose-Zusatz wirkte im Vegetationsversuch auf die Salpeter-, Ammonsulfat- und Blutmehl-Wirkung stets deutlich deprimierend. Im übrigen entsprach die Stickstoffwirkung oft nicht der mit Hilfe des Erdversuches ermittelten Ammoniakzahl (vergl. zu 1). Die Ausnutzung des Humus-Stickstoffs wurde durch Beimischung von Sand zu Lehm merklich verstärkt.

Zu 5. Von den verschiedenen Vegetations-Versuchen verdient hervorgehoben zu werden, daß in Übereinstimmung mit früheren Befunden J. Lipmans eine Azotobacter-Impfung nie günstig, sondern vielmehr ausgesprochen nachteilig wirkte. Löhnis.

Russell, E. J. and Golding, J. Investigations on „sickness“ in soil. I. Sewage sickness. Journ. Agric. Science, 5, 1912, S. 27—47.

Die verminderte Ertragsfähigkeit des Bodens der Kegworth Sewage Farm erwies sich als bedingt durch Verschlechterung von dessen physikalischen und mikrobiellen Eigenschaften. Die Wasser-Durchlässigkeit war herabgesetzt, der Bakteriengehalt relativ niedrig, der Algen- und Protozoen-Gehalt dagegen hoch. Durch Behandlung der Erde mit Toluol oder Schwefelkohlenstoff wurden die Protozoen zum Absterben gebracht; die Bakterienzahl hob sich von 20—30 auf 100—400 Millionen pro Gramm Boden. Da die „Müdigkeit“ nur durch die Erde selbst, nicht durch das filtrierte Extrakt übertragen werden konnte, können schon aus diesem Grunde, ganz abgesehen

von anderen Momenten, Toxine als Ursache der betreffenden Erscheinungen nicht in Frage kommen. Dagegen sprechen sämtliche Beobachtungen sehr für die Annahme, daß das Überhandnehmen der Protozoen als wichtigster Faktor in Rechnung zu stellen ist. Größere Versuche mit Toluol-Behandlung des Bodens sprachen gleichfalls für die praktische Brauchbarkeit des Verfahrens. Löhnis.

Weber, G. G. A. Die Einwirkung der Kälte auf die Mikroorganismen und ihre Tätigkeit im Boden. Diss. phil. Jena 1912, 88 S.

Sieben Böden differenter Beschaffenheit wurden in bezug auf Keimgehalt, Nitrifikation und Denitrifikation geprüft, nachdem sie längere Zeit verschieden stark durchfeuchtet aufbewahrt und z. T. einer 14tägigen „Erkältung" auf —10 bis —20° C ausgesetzt worden waren. Die Keimzählungen wurden auf Agarplatten durchgeführt, die Umsetzungsversuche in Lösungen und in Erde.

Die Resultate sind nur im Auszuge mitgeteilt; z. T. sind sie nicht wenig überraschend. Die Nitrifikation war z. B. in mit Wasser übersättigter Erde lebhafter als dann, wenn der Feuchtigkeitsgrad des Bodens reichlich 50 % von dessen Wasserkapazität entsprach. Nicht nur die Denitrifikations- sondern auch die Nitrifikations-Versuche in Lösungen wurden in relativ hoher Schicht durchgeführt (für die Nitrifikation 100 ccm in 450 ccm-Erlenmeyerkolben). Da die hierbei (unter mehr oder minder weitgehendem Luftabschluß) erlangten Resultate z. T. andere sind als die für die (weit stärker durchlüfteten) Erdproben ermittelten, so ist nach Verf.s Meinung der Erdversuch „das einzig Richtige". Soweit die mitgeteilten Befunde einen einigermaßen sicheren Schluß zulassen, ergibt sich, daß die Keimzahl durch den Frost sehr und die Denitrifikation wenig gefördert wird, während die Nitrifikation eine geringe Depression erfuhr. Löhnis.

Dvořák, J. Studien über die Stickstoffanhäufung im Boden durch Mikroorganismen. Zeitschr. f. d. landw. Vers.-Wesen in Österreich, **15**, 1912, S. 1077—1121.

Wurden einer aus 1000 ccm Moldauwasser + 1 g K_2HPO_4 + 1 g $CaCO_3$ bereiteten Nährlösung auf je 250 ccm 10 g verschiedener C-Quellen hinzugefügt, so ergaben sich bei Impfung mit einer Azotobacterreinkultur nach vierwöchiger Versuchsdauer bei 28° C folgende Zunahmen an gebundenem Stickstoff in mg pro 100 g Kohlenstoff.

Fichtennadeln	57,3	Weizenstroh	325,4
Ahornblätter	89,5	Roggenstoppeln	596,8
Eichenlaub	126,9	Lupine	711,5
Maisstroh	280,3	Klee	1237,9
Luzerne	319,5	Glukose	1456,5

An Kohlenstoff wurden bei mäßiger Lüftung während 21 Tagen folgende prozentische Mengen in Kohlensäure übergeführt, wenn je 10 g Kohlenstoff mit 500 g gewöhnlicher, keimhaltiger Erde vermischt wurden:

Rotklee	59,69	Eichenlaub	17,70
Glukose	42,14	Weizenstroh	14,54
Stärke	29,00	Zellulose	11,77
Lävulose	27,22		

Auch die „biologische Absorption", d. h. die Assimilation von Ammon- und Nitratstickstoff wurde in verschiedenen Erden nach der von Stoklasa angegebenen Methode untersucht. Der Stickstoff des Kalksalpeters wurde weniger absorbiert und assimiliert als derjenige des Natronnitrates; im übrigen bringen die betreffenden Zahlen nichts prinzipiell Neues.

Löhnis.

Scheffler, W. Bakteriologisch-chemische Untersuchungen über den Stalldünger, speziell über den Einfluß verschiedener Konservierungsmittel auf die Bakterienflora und die Gärungsvorgänge. Nebst Einleitung von O. Lemmermann. Landw. Jahrb., **42**, 1912, S. 429—547.

Kuhdünger wurde mit Gips, verschiedenen Mengen Schwefelsäure bezw. Kalk versetzt und 9—26 Wochen in Steingutgefäßen aufbewahrt. Gelatineplattenkulturen sowie Agarkulturen in hoher Schicht dienten zur Feststellung von Zahl und Art der Düngerorganismen. Die schwächste Verdünnung war nur $^1/_{500\,000}$, gezählt wurde schon nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur, die Zahlen haben mithin nur einigen relativen Wert. Im frischen Dünger wurden 93 Millionen Keime pro g ermittelt, weiterhin resultierten folgende Befunde:

Dünger	ohne Zusatz	mit Gips	Schwefelsäure			Kalk	
			0,4 %	0,8 %	1,2 %	1 %	3 %
nach 9 Wochen	177000000	—	336000000	—	—	580000000	230000
„ 18 „	250000000	4000000	74000000	13000000	176000	2500000	53000000
„ 26 „	5500000	209700	1500000	48000000	4650	5000000	1300000

Im Anfang dominierten Streptokokken, Koliformen und gelbe Kurzstäbchen, später aërobe und anaërobe Sporenbildner, Fluoreszenten, Vertreter der Typhoidesgruppe sowie Sproß- und Schimmelpilze, die speziell durch Schwefeliäure und Kalk begünstigt wurden. Die isolierten 112 Stämme sind (unvollständig) beschrieben, eine ansehnliche Zahl „neuer Arten" wurde aufgestellt, darunter 13 „Bact. ureae" sowie ein „Bact. denitrificans Sch.". Die Reinkulturen wurden in Harnstoff-, Pepton-, Fibrin- und Glykokolllösung sowie in Salpeterlösung geimpft und dabei unter anderem (angeblich) festgestellt, daß nicht weniger als 21 Arten aus Fibrin salpetrige und Salpetersäure bildeten. Die Abnahmen an Trockensubstanz und Gesamtstickstoff waren in den verschieden behandelten Düngerproben ziemlich gleich. Verf. versucht, zwischen den Ergebnissen der chemischen Düngeranalyse und den Resultaten seiner bakteriologischen Untersuchungen gewisse Beziehungen aufzufinden. Schließlich wurden kleine Düngermengen (je 1 g) in Erlen-

meyerkolben mit wenig Wasser übergossen, nach erfolgter Sterilisation mit verschiedenen Reinkulturen geimpft und nach Verlauf von 8 Wochen festgestellt, daß 14 Kolben einen Stickstoffverlust von 1,92—36,54 % zeigten, 23 dagegen eine Zunahme um 5,77—37,18 %. Parallelversuche fehlen: die „Zunahmen" vermag Verf. nicht zu erklären, dagegen ist es nach seiner Ansicht durch diese Versuche „mit unzweifelhafter Gewißheit festgestellt, daß die gewöhnlichen Mikroorganismen des Düngers Stickstoffverluste veranlassen können", weiter: „daß eine Verrottung des Stalldüngers ohne Stickstoffverluste nicht denkbar ist, mithin, daß der Verrottungsprozeß durch den Verlust an Stickstoff gekennzeichnet ist". (Mit größerer Berechtigung [23 : 14] müßten jedoch Stickstoff-„Zunahmen" erwartet werden.) Löhnis.

Stewart, R. and Greaves, J. E. The production and movement of nitric nitrogen in soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 115—147.

Mäßige Bewässerung förderte sowohl die Nitrifikation wie die Stickstoffbindung (durch Knöllchenbakterien). Nach der Höhe des Nitratgehaltes folgen einander: Brache, Kartoffel-, Mais-, Hafer- und Luzerne-Land. Bei Berücksichtigung des Stickstoffgehalts der Ernteprodukte ergaben sich jedoch für die bestellten Parzellen höhere Werte als für die Brache. Ein direkter Zusammenhang zwischen Jahreswitterung und Nitratgehalt der Erde war nicht erkennbar. Im Herbst war mehr Salpeter vorhanden als im Frühjahr infolge Versickerung während des Winters. Löhnis.

Brown, P. E. Some bacteriological effects of liming. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 148—172.

Kalkung vermehrte Keimzahl, Ammoniakbildung (aus Pepton, Blut- und Baumwollsaatmehl), Nitrifikation (von Blutmehl und Ammonsulfat), Stickstoffbindung und die Stickstoffernten bei Topfversuchen mit Hafer. Die Angaben über die Versuchsanordnung sind z. T. sehr unvollständig.

Löhnis.

Temple, J. C. The influence of stall manure upon the bacterial flora of the soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 204—223.

Stallmist-Düngung erhöhte den Keimgehalt des Bodens deutlich und anhaltend, und zwar wirkte das sterilisierte Material hierbei ebenso wie das keimhaltige. Ähnlich verhielt es sich in bezug auf die Ammoniakbildung. Dagegen kamen für die gleichfalls konstatierte Steigerung der Nitrifikation auch die im Dünger selbst vorhandenen Salpeterbakterien in Betracht.

Löhnis.

Greig-Smith. The determination of Rhizobium in the soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 227—229.

Zum Nachweis der als Rhizobium leguminosarum angesprochenen (aber wohl eher mit Bact. radiobacter Beijck. zu identifizierenden) Organismen

diente folgendes Agar: 100 Leitungswasser, 2 Agar, 2 Lävulose, 0,06 Asparagin, 0,1 Natriumzitrat, 0,1 Kaliumzitrat. Auch Azotobacter kam auf den Platten, bei deren Anfertigung etwas Na_2CO_3 beizufügen ist, zu mäßiger Entwicklung; seine Bedeutung wird hiernach gegenüber derjenigen der „Rhizobien" nur relativ gering eingeschätzt. Die Zahl dieser Organismen betrug pro Gramm Erde durchschnittlich $1^3/_4$, im Höchstfalle $5^1/_2$ Millionen, die Stickstoffbindung 3—5,6 mg pro 100 ccm. Die Annahme, daß die älteren, vom Ref. ausgeführten Zählungen deshalb zu niedrige Werte geliefert hätten, weil in diesem Falle mit Lösungen gearbeitet wurde, ist durch die im vorigen Jahre von Millard veröffentlichten Befunde bereits als nicht zutreffend erwiesen worden. Löhnis.

Stevens, F. L. and Withers, W. A. Studies in soil bacteriology. V. The nitrifying and ammonifying powers of North Carolina soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 187—203.

Nach früheren Untersuchungen der Verf. wären in Nord-Carolina nicht nitrifizierende Böden sehr häufig. Von Kellerman und Robinson erhobene Befunde standen nicht im Einklang mit dieser Annahme. Prüfungen der früher benutzten Methoden führten Verf. jetzt dahin, daß „it was thought best, to set aside all the zeros for nitrites and nitrates for the 1909 samples" (!) Die neuen Untersuchungen ergaben nun für 98,9 % der Erdproben Anwesenheit nitrifizierender Organismen. Ein Zusammenhang zwischen der Qualität der Böden und den von den Verf. ermittelten Ammonifikations- und Nitrifikationswerten war aber auch in diesen Fällen nicht erkennbar. Versuche in Lösungen lieferten wiederum unbefriedigende Resultate; wie hierbei verfahren wurde, wird indessen auch in dieser V. Mitteilung noch nicht angegeben. Löhnis.

Mann, H. H., Joshi, N. V. and Kanitkar, N. V. The „Rab" System of rice cultivation in Western India. Mem. Dept. Agric. India, Chem. Ser., **2**, 1912, S. 141—191.

Das Verfahren beruht darin, auf dem zur Reissaat bestimmten Lande Kuhdünger, Baumzweige, Stroh, trockenes Gras usw. zu verbrennen; trotzdem es umständlich und kostspielig ist, wird es doch als sehr wirksam beibehalten. Die eingehenden Untersuchungen der Verf. erweisen, daß der hierbei erzielten Erhitzung des Bodens (während $1^1/_2$—2 Stunden bis ein Zoll Tiefe 85—110° C) ca. 60 % des Gesamterfolges zuzuschreiben sind. Am günstigsten wirkt die Erhitzung kurz vor der Saat, erfolgt diese erst nach 6 Wochen, so ist der Effekt nur gering, nach 3 Monaten ist er überhaupt nicht mehr wahrnehmbar. Die Keimung wird nicht beschleunigt, desgleichen wirkt das Extrakt aus der behandelten Erde nur wenig fördernd. Die Hauptursache der Ertragssteigerung scheint auch hier in der Abtötung zahlreicher Erdorganismen gegeben zu sein. Die Sauerstoffabsorption wurde auf $^1/_5$ herabgesetzt, nach 6 Wochen war sie dagegen bis um 50 % erhöht. Löhnis.

Kellermann, K. F. and Mc Beth, J. G. The fermentation of cellulose. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 34, 1912, S. 485—494 m. 2 Tafeln.

Da nach den von Omelianski und van Iterson angegebenen Methoden keine Reinkulturen erhalten werden konnten, wurde nebeneinander Zellulose-, Stärke-, Kartoffel- und Dextroseagar benutzt. Namentlich das Zelluloseagar, dessen Bereitungsweise im Original nachzusehen ist, bewährte sich sehr gut. Nach Omelianskis Rezept angesetzte Versuche lieferten zwei Zellulosezersetzer, die indessen mit den Methan- und Wasserstoffbazillen des genannten Autors durchaus nicht übereinstimmten. Die genauere Untersuchung der Originalkulturen Omelianskis lieferte das überraschende Resultat, daß die Wasserstoffbazillenkultur aus zwei Zellulosezersetzern und fünf Begleitbakterien, die Methanbazillenkultur aus einem Zellulosezersetzer und zwei Begleitern bestand. Zudem zersetzten diese drei auch auf Fleischnährböden wachsenden Reinkulturen die Zellulose sehr rasch unter aëroben Bedingungen. Sie werden als Bacillus flavigena, amylolyticus[1]) und rossica ausführlich beschrieben. Keine dieser drei Arten bildet bei der Zellulosezersetzung Gas: diese weitere Fermentation ist das Werk der Begleitbakterien. Mit anderem Ausgangsmaterial eingeleitete Versuchsreihen lieferten 11 fakultativ anaërobe Bakterien, welche die Zellulose rasch aërob zersetzten, sowie 75 zelluloselösende Pilze, vornehmlich den Gattungen Penicillium, Fusarium, Aspergillus und Sporotrichum angehörend. Eine der Bakterienarten ist thermophil. Löhnis.

Brown, P. E. and Smith, R. E. Bacterial activities in frozen soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 34, 1912, S. 369—385.

Verf. bestätigen H. J. Conns Befunde, denen zufolge die in Gußkulturen ermittelte Keimzahl bei länger anhaltendem, mäßigem Froste, bei dem die Bodenflüssigkeit noch nicht vollständig erstarrt ist, eine steigende Tendenz erkennen läßt. Ebenso erwies sich die ammonifizierende Kraft der schwach gefrorenen Erde wesentlich höher als zuvor, desgleichen wuchs die Intensität der Stickstoffassimilation, während Nitrifikation und Denitrifikation einen deutlichen Rückgang erkennen ließen. Die Behauptung der Verf., daß man bisher allgemein angenommen habe, die Erdorganismen seien unter diesen Umständen untätig, ist allerdings nicht zutreffend[2]), und die generelle Angabe, daß die mit den betreffenden Substanzen vermischte Erde nach voraufgegangener Trocknung (?) stets in Bechergläsern geprüft werden müsse, weil Umsetzungsversuche in Lösungen unstreitig unbrauchbare Resultate gäben, wird durch die eigenen Befunde der Verf. schlagend widerlegt: Die

[1]) Dieser Name ist bereits anderweit vergeben (Choukévitch, Ann. de l'Inst. Pasteur., 25, 1911, S. 273) und muß deshalb geändert werden.

[2]) Es handelt sich um z. T. schon seit Jahrzehnten bekannte Erscheinungen, vgl. Löhnis, Handbuch d. landw. Bakteriologie, S. 534, 568.

in einer mit Erde geimpften Peptonlösung erlangten Resultate stimmen fast vollkommen überein mit den für mit Blutmehl vermischte Erde gewonnenen Zahlen. Löhnis.

Brown, P. E. Bacteriological studies in field soil. I. The effects of liming. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **35**, 1912, S. 234—248.

Brown, P. E. Bacteriological studies in field soil. II. The effects of continuous cropping and various rotations. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **35**, 1912, S. 248—272.

1. Die Erde von nicht bzw. verschieden stark gekalkten Parzellen (leider ohne Parallelen!) wurde auf Keimzahl, Ammoniakbildung, Nitrifikation und Stickstoffassimilation geprüft. Die Kalkung wirkte stets fördernd, am wenigsten auf die Ammoniakbildung, mehr auf die Keimzahl, noch stärker auf die Nitrifikation, am stärksten auf die Stickstoffassimilation. Auch die Ernten waren für Kalkung dankbar. Die Auszählung der bei 20° aufbewahrten Agarplatten wurde bereits nach drei Tagen (!) vorgenommen. Die Blutmehlzersetzung nahm von Juni bis Oktober deutlich ab, während sich die Ammoniakbildung aus Baumwollsaatmehl auf ziemlich konstanter Höhe hielt. Die Nitrifikation des Blutmehls verlief lebhafter als diejenige des Ammonsulfats; die Intensität sank vom Juli bis Oktober. Dagegen war die N-Assimilation im September und Oktober wesentlich lebhafter als im Juni und Juli.

2. Analoge Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses der auf dem Felde angebauten Früchte lehrten, daß bei einem mehrjährigen Fruchtwechsel die Tätigkeit der verschiedenen Gruppen von Erdorganismen wesentlich lebhafter ist als in dem dauernd mit derselben Frucht bestellten Lande. Namentlich für ein perennierendes Kleefeld ergaben sich sehr niedrige Werte. Zwischen den Resultaten der bakteriologischen Erdanalyse und den auf den Feldern erzielten Ernten ergaben sich auch in diesem Falle recht gute Übereinstimmungen. Löhnis.

Molliard, M. Action hypertrophisante des produits élaborés par le Rhizobium radicicola Beijer. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris, **155**, 1912, S. 1531—1534.

Das keimfreie Filtrat einer Kultur von Knöllchenbakterien in Zucker-Bohnenblätterabkochung veranlaßte, wenn es als Substrat für Erbsenvegetationsversuche benutzt wurde, an den Wurzeln in ihrer ganzen Ausdehnung analoge Veränderungen, wie sie beim Eindringen der Bakterien an der Knöllchenansatzstelle wahrzunehmen sind. Die ungleiche Thermoresistenz der betreffenden Stoffwechselprodukte der Bakterien macht es möglich, die charakteristischen Metamorphosen des Rinden- und des Innenteiles der Wurzel getrennt oder gemeinsam entstehen zu lassen. Löhnis.

Maillard, L. C. Formation d'humus et de combustibles minéraux sans intervention de l'oxygène atmosphérique, des microorganismes, des hautes températures ou des fortes pressions. Compt. rend. de l'Acad. Paris. **155**, 1912, S. 1554—1556.

Verf. hatte schon früher[1]) festgestellt, daß Aminosäuren mit verschiedenen Zuckern in wässeriger Lösung bei mäßigem Erwärmen unter CO_2-Abspaltung melanin- resp. humusartige Körper liefern. Da diese Reaktion auch bei niederer Temperatur (langsam) vonstatten geht, und nach Verf.s Meinung die Oxydation bei der Humusbildung keine Rolle spielt, so wird gefolgert, daß diese Entdeckung genüge, um die Humus- und Kohlebildung zu erklären. Die Rolle der Mikroorganismen bei der Humusbildung beschränke sich auf den Abbau der Proteïnsubstanzen zu Amidosäuren und der Polysaccharide zu Zucker. Löhnis.

Prazmowski, A. Azotobacterstudien. I. Morphologie und Cytologie. Anz. Akad. Krakau. Mathem.-naturw. Kl. [B], 1912, S. 87—174, m. 3 Taf.

Die zu den Versuchen und zur Agarbereitung benutzte Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung (die kleineren Dosen für Agar): 1000 aq. dest., 15 Glukose, 0,4—0,5 $CaHPO_4$, 0,02—0,05 K_2HPO_4, 0,25—0,5 K_2SO_4, 0,1 $MgSO_4$, 0,1 NaCl. Das Agar wurde zunächst 30 bis 36 Stunden in destilliertem Wasser eingeweicht, dann in $^3/_4$ des insgesamt erforderlichen Wasserquantums gelöst, nach erfolgter Filtration mit den im Restwasser gelösten Nährstoffen vermischt und im strömenden Dampfe sterilisiert. Die Brauchbarkeit der Lösung wurde durch Beigabe von Eisenhydroxyd, Kieselsäure, Kalziumkarbonat, Holz- und Knochenkohle erhöht, am besten aber wirkte ein Zusatz von Humat. Die Stickstoffbindung erfolgt durch die vegetativen Formen (Kurzstäbchen), wie in einer II. Mitteilung näher nachgewiesen werden soll.

Bei der Keimung der Sporen entwickeln sich zunächst Kokken, diese werden zu zylindrischen, peritrich begeißelten Stäbchen von weißer, mattglänzender Farbe. Nach etwa 1—3 Tagen treten ovale Formen auf, die den Übergang zu dem fruktifikativen Kokkenstadium darstellen. Mitunter nehmen die immer kürzer werdenden Zellen die Gestalt geschnäbelter Diplokokken an. Die polar begeißelten Kokken werden entweder in toto zu Sporen, deren Membran eine braune Färbung annimmt, oder die Sporen entstehen im Innern der Zellen. Als Sarcinaform sollte dieses Entwicklungsstadium nicht bezeichnet werden. Die mannigfachen Involutions- und Anpassungsformen (Gallertkolonien usw.) werden ausführlich geschildert. Besonders interessant sind die als Regenerationserscheinungen gedeuteten Mikroformen, die zuweilen schon im Innern der alten Zellen zu neuen Azotobacterindividuen werden. Schütteln begünstigt ihre Entstehung. Das häufig in den Zellen auftretende Glykogen hat (entgegen einer dahin zielenden Annahme) mit der Stickstoff-

[1]) Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris, **155**, 1912, S. 66—68.

bindung sicher nichts zu tun. Die zahlreichen Einzelheiten (über Zellkerne und Kernäquivalente, Vakuolen, Zelleinschlüsse usw.), die bei den zytologischen Studien festgestellt wurden, sind im Original nachzusehen. Löhnis.

Prazmowski, A. Azotobacter-Studien. II. Physiologie und Biologie. Anz. d. Akad. Krakau, Mathem.-naturw. Kl. [B], 1912, S. 855—950.

Am vollständigsten gelangten eine größere Zahl physiologischer und biologischer Versuche über die Faktoren der Stickstoffbindung zur Durchführung. Hinsichtlich der Wirkungen mineralischer Stoffe wurde festgestellt, daß weder die Hydrosole des Aluminium-, Eisen- oder Silizium-Hydroxyds, noch die Karbonate von Alkalien und Erdalkalien noch auch die Silikate des Natron, des Eisen oder des Aluminium einen ausschlaggebenden Einfluß geltend machten; teils handelte es sich um geringe Förderungen, teils um geringe Schädigungen, immer war der Effekt gering. Auch in der von Kaserer angegebenen mineralischen Kolloidlösung blieben die Stickstoffernten sehr niedrig. Günstigere Resultate ergaben sich bei der Verwendung organischer Substanzen, speziell dann, wenn solche kolloider Natur in Kombination gegeben wurden. So erwiesen sich folgende Zugaben zur Glukose-Nährlösung als sehr förderlich: Agar (0,05 $^0/_0$) + Natriumsilikat + Karbonat + $Fe(OH)_3$-Saccharosol oder $Fe(OH)_3$-Sacharosol (0,01 $^0/_0$) + Karbonat (0,02 $^0/_0$) oder Dextrin (0,025 $^0/_0$) + Pepton (0,01 $^0/_0$) + $Fe(OH)_3$-Saccharosol (0,003 $^0/_0$). Die fixierten Stickstoffmengen waren in diesem Falle ebenso hoch wie bei Zugabe eines natürlichen Humuspräparates. Auch Zuckerhumus wurde dann voll wirksam, wenn etwas Pepton, Karbonate und $Fe(OH)_3$-Saccharosol hinzugefügt wurde. Natriumsilikat gab ebenfalls gutes Wachstum und raschen Glukose-Verbrauch, aber nur geringe Stickstoffbindung. Es sind also nicht die Mineralien als solche, noch auch das Eisen das Wirksame, sondern die Kolloide, und zwar speziell diejenigen organischer Natur, sind als die Träger der Energien in Betracht zu ziehen, die das Azotobacter zur Betätigung seiner Stickstoffbindungs-Fähigkeit bringen. Allein scheinen sie sämtlich nur wenig zu leisten, erst in geeigneter Kombination kommen sie zu voller Wirkung. Hierbei muß dem kolloiden Eisenhydroxyd jedenfalls eine besonders wichtige Rolle zuerkannt werden. Die hohe Adsorptionskraft des Humus für Basen, Salze usw. ist ebenfalls im Auge zu behalten. Die zu den Versuchen benutzten Azotobacter-Stämme (eine weiße und eine schwarze Kultur von Chroococcum sowie eine besonders aktive Kultur von Vinelandii Lipm.) zeigten ein im allgemeinen analoges Verhalten, wenn sie auch hinsichtlich ihres Stickstoffbindungs-Vermögens ziemlich weit differierten. Dieses schwankt mit dem individuellen Kraftzustand der Kulturen.

Mehr fragmentarisch sind weiterhin einige Fragen aus der Biologie des Azotobacter behandelt. Obwohl eine definitive Antwort noch nicht gegeben werden kann, neigt Verf. zu der Ansicht, daß mit Rücksicht auf die weitgehende Variabilität der in Betracht kommenden Formen Az. chroococcum,

Beijerinckii und agile (Vinelandii) wohl als zu einer Art gehörig anzusehen sind, während Azotob. vitreum eine besondere Stellung einzunehmen scheint. Die Bildung des dunklen Pigments geht auch noch in toten Zellen unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs vor sich; das Auftreten des fluoreszierenden Farbstoffs ist an eine alkalische Reaktion des Substrates gebunden. Der zuweilen wahrnehmbare starke Zuckerverbrauch bei geringer Stickstoffbindung führt zu reichlicher Glykogenanhäufung im Innern der Zellen. Die konzentrische Schichtung der Azotobacter-Kolonien wird auf das verschiedene Alter der betreffenden Partien zurückgeführt, die radiäre Streifung auf Ansammlung von Kohlensäure in Spalten der Kolonien.

Schließlich wird betont, daß Azotobacter als echte Bakterie aufzufassen ist, die allerdings in keine der z. Z. bestehenden systematischen Gruppen dieser Ordnung gut unterzubringen ist. Er kann gewissermaßen als Stammvater von Coccaceen und Bacteriaceen gelten. Löhnis.

Wittmann, Joh. Gutachten über die vom Fischereiverein in Jaromeritz an der österreichischen Nordwestbahn in Mähren eingesandten Wasser-, Fisch- und Schlammproben. Arch. f. Chem. u. Mikroskopie, 5. Jhrg., 1912, Heft 2, S. 77.

Die Untersuchungen des Verf. haben ergeben, daß ein am 13. August 1911 im Rokytné-Fluß beobachtetes katastrophales Fischsterben durch die Abwasser einer Lederfabrik hervorgerufen worden ist. Die in Fäulnis übergehenden organischen Substanzen des Abwassers haben durch Sauerstoffentzug ein Ersticken der Fische verursacht. A. Müller.

Wilhelmi, J. Die makroskopische Fauna des Golfes von Neapel, vom Standpunkte der biologischen Analyse des Wassers betrachtet. Mitteilungen aus der Königl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung zu Berlin, 1912, Heft 16, S. 47.

Da Verf. auf Grund einer früher veröffentlichten Literaturstudie (Wasser u. Abwasser 1911, Band 4, S. 177 u. 221) die Überzeugung gewonnen hat, daß chemische und bakteriologische Untersuchungen über die Einwirkung von Abwässern auf das Meer keine befriedigenden Resultate erwarten lassen, eine biologische Analyse des Meerwassers dagegen aussichtsreich erscheint, so sollen vorliegende Untersuchungen die Grundlage für eine solche bilden. Verf. sucht die rein marine Fauna des Golfes von Neapel durch Vergleichung der Standorte und experimentelle Prüfung des Verhaltens der einzelnen Arten zu künstlich verschmutztem Wasser in typische Saprozoen, in Bewohner des reineren Wassers, in Tiere, die dem Zustande des Wassers gegenüber sich indifferent verhalten, und in fakultative Saprozoen zu differenzieren. Auf die Einzelheiten der 166 Seiten umfassenden Studie kann hier nicht näher eingegangen werden.

Der Einleitung schließen sich Bemerkungen zur Faunistik des Golfes an, denen die Besprechung des Untersuchungsmaterials, der Untersuchungs-

methoden und ihrer Fehlerquellen folgen. Der 4. Abschnitt enthält Untersuchungen über das Verhalten der Strandfauna und der Alge Ulva zu künstlich verunreinigtem Meerwasser, Vergleiche der Untersuchungsergebnisse mit den ökologischen Verhältnissen der Arten in natura und Untersuchungen der faunistischen Verhältnisse einzelner mehr oder minder verschmutzter Regionen des Golfes. Der 5. Abschnitt ist den Standorten, Cönobiosen und der ökologischen Bewertung der wichtigsten Vertreter der litoralen Fauna des Golfes gewidmet; ihm schließt sich eine Betrachtung der Fauna in wirtschaftlicher und hygienischer Hinsicht an. In der Zusammenfassung sind die Leitformen des mäßig bis stärker verunreinigten Meerwassers aufgezählt. Da von den erwähnten Arten eine große Zahl auch in den nordeuropäischen Meeren vorkommt, so bietet nach Verf. der vorliegende Entwurf der biologischen Analyse auch die Grundlagen für eine biologische Beurteilung dieser Meere.

A. Müller.

Schneckenberg, E. Chemische Sterilisierungs-Schnellproben bei Ozon- und Ultraviolett-Wasserwerken. Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung, 1912, **55**, Nr. 18, S. 432.

Verf. bespricht zunächst die bekannte Ozonprobe, deren positiver Ausfall in dem aus den Ozontürmen kommenden Wasser eine vollständige Sterilisation gewährleistet, und erwähnt dann die Möglichkeit, auch die Sterilisationswirkung von Quarzquecksilberdampflampen auf chemischem Wege durch Feststellung des H_2O_2-Gehaltes im bestrahlten Wasser mit Hilfe von naphthensaurem Kupfer festzustellen. A. Müller.

Hesse, E. Weitere Studien über den Bakteriennachweis mit dem Berkefeldfilter. Zeitschrift für Hygiene, 1912, **70**, S. 311.

In einer früheren Arbeit in Band 69 derselben Zeitschrift hatte der Verf. gezeigt, daß die bei der Filtration bakterienhaltiger Flüssigkeiten auf der Oberfläche der Berkefeldfilter zurückgehaltenen Keime durch rückläufige Spülung entfernt und in der Rückspülflüssigkeit bis zu 42 % nachgewiesen werden können. Unter Anwendung geeigneter Vorrichtungen ist es also bei Benutzung der Kerze möglich, auch große Wassermengen bakteriologisch zu untersuchen. Während aber nach den früheren Versuchen die zu verwendenden Kerzen vorher stets auf ihre Brauchbarkeit geprüft werden mußten, gelingt es Verf. durch Verwendung fein geschlemmten Kieselgurs, diese Schwierigkeit zu beseitigen. Die Vorteile, die der Zusatz von Kieselgur zu der zu filtrierenden Bakterienaufschwemmung bietet, sind nach Verf. kurz folgende:

1. Durch Zugabe von 0,1 g geschlemmter, steriler Kieselgur wird die Prozentzahl der in der Rückspülflüssigkeit nachweisbaren Keime von 42 auf 91 erhöht. 2. Eine Auswahl der Kerzen und eine ständige Kontrolle ihrer Leistung erweist sich als überflüssig, da auch schlecht arbeitende Kerzen mit Zusatz von Kieselgur hervorragend gute Resultate liefern. 3. Die

Filtration unter höherem Druck liefert ohne Kieselgur selbst bei tadellosen Kerzen schlechte Ergebnisse, mit Kieselgur aber vorzügliche. Hierdurch wird die Verwendbarkeit der Methode zur Bestimmung des Kolititers bei Nutzwasseranlagen gesichert. 4. Der erste Stoß mit der Druckpumpe entfernt bei der rückläufigen Spülung unter Ablösung der Kieselgurhaut fast sämtliche Keime. 5. Der feine Kieselgurbelag beeinträchtigt die Übersichtlichkeit der Drigalskiplatten nicht, befördert aber ihr Abtrocknen. 6. Die Filtrationsgeschwindigkeit wird durch die Verwendung von Kieselgur nicht merklich beeinträchtigt. A. Müller.

Gebhard, F. Verfahren zur Geruchlosmachung und gewerblichen Verwertung von Kanalisationssinkstoffen, wie Fäkalien, Abwasserschlamm. Patentschrift Nr. 249936.

Verf. hat sich ein Verfahren patentieren lassen, nach dem der zu behandelnde Schlamm usw. mit gleichen Teilen getrocknetem und gemahlenem Nordseeschlamm oder Seeschlick vermischt wird. Es soll dabei ein geruchloses, sofort transportfähiges Produkt entstehen. A. Müller.

Lemberg, K. Das Missongfilter. Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung. 1912, **55**, Nr. 19, S. 446.

Der Artikel ist veranlaßt durch die in derselben Zeitschrift Nr. 11 vom 16. März 1912 von Missong gegebene Beschreibung seines Filters. Verf. wendet sich gegen einige technische Unrichtigkeiten und vor allem gegen einige Bemerkungen Missongs betreffend die Verwendung von Chemikalien zur Wasserreinigung, die nach Ansicht der Verf. dazu angetan sind, der Entwicklung der Schnellfiltration in Deutschland hinderlich zu sein, da sie gewisse, glücklich überwundene Vorurteile von neuem zu beleben suchen.

A. Müller.

Sewage Treatment at Worcester. Engineering Record, 1912, **65**, Nr. 19, S. 513.

Das Abwasser wird nach Passieren von Sandfängen teils einer Sandfiltration unterzogen, teils wird es mit Kalkmilch behandelt. Die Sandfiltration liefert die günstigeren Ergebnisse. Der Artikel bringt genaue Angaben über die mit beiden Verfahren im Laufe des vergangenen Jahres erzielten Effekte. A. Müller.

Stability of Effluents from Contact and Trickling Filters. Engineering Record, 1912, **65**, Nr. 10, S. 265.

Der Aufsatz berichtet über systematische Bestimmungen der Fäulnisfähigkeit von Abflüssen verschiedener Kontakt- und Tropfkörper, die an der Lawrence Experiment Station von Clark u. Gage ausgeführt wurden. Der Eintritt der Fäulnis wurde durch die Geruchsbildung oder die innerhalb 5 Tagen eintretende Schwärzung der in stopfenvollen Flaschen bei 80° F aufgehobenen Wasserproben festgestellt. Zu den Versuchen wurden bio-

logische Körper von verschiedenem Material benutzt, die wechselnden Belastungen unterzogen wurden. Es stellte sich heraus, daß die nicht fäulnisfähigen Abflüsse immer stark nitrathaltig waren. Wenn der Nitratgehalt mehr als 2 Teile pro 100 000 betrug, faulten die Abflüsse nicht, betrug er nur mehr als 1 Teil, so faulten 10—50 % der Proben. A. Müller.

Disinfecting Lake Water with Calcium Hypochlorite. Engineering Record, 1912, **65**, Nr. 13, S. 360.

Wegen der fortschreitenden Verschmutzung der großen Seen Nordamerikas ist eine größere Zahl der an ihnen gelegenen Städte, welche ihr Trinkwasser den Seen entnehmen, dazu übergegangen, das Wasser mit Chlorkalk zu desinfizieren. In Zusammenhang hiermit haben Lederer u. Bachmann die Einwirkung des Chlorkalks auf Seewasser eingehend studiert. Wechselnd nach den lokalen Verhältnissen werden im allgemeinen 0,2 bis 0,4 Teile wirksames Chlor auf 1 Million Teile Wasser gegeben. Bei mäßig verschmutztem Wasser genügen 0,3 Teile bei einer Einwirkungsdauer von $^1/_2$ bis 1 Stunde, um alle gasbildenden Bakterien abzutöten. Die Reduktion der Gesamtkeimzahl beträgt etwa 97 %, die überlebenden Keime sind nicht Sporenbildner. Die erwähnten Autoren betonen, daß bei der Beurteilung der desinfizierenden Wirkung hauptsächlich der anfängliche Keimgehalt zu berücksichtigen ist, während die prozentuale Reduktion von untergeordneter Bedeutung ist. Für die Praxis kommt es besonders darauf an, festzustellen, daß die überlebenden Keime nicht pathogener Art sind. Versuche mit B. subtilis haben erwiesen, daß es bei Anwendung der gebräuchlichen Chlorkalkmengen unmöglich ist, vollkommen steriles Wasser zu erhalten, denn selbst Gaben von 400 Teilen wirksamen Chlors auf 1000000 Teile Wasser genügten nicht, um die Sporen dieses Bazillus abzutöten. Bedeutend weniger widerstandsfähig zeigten sich die Sporen von B. anthracis. Von den Eingeweidebakterien zeichnet sich nur B. mirabilis durch größere Resistenz aus, ihn vermochten selbst 5 Teile wirksamen Chlors auf 1000000 Teile Wasser nicht vollständig zu unterdrücken. B. pyocyaneus, Sarcina lutea, B. acidi lactici wurden vollständig durch 0,3 Teile vernichtet. Bemerkenswert ist, daß Keime von Bact. coli, die eine Chlorkalkbehandlung überdauert hatten, zum Teil ihre charakteristischen Eigenschaften einbüßten. Temperaturschwankungen zwischen 32° u. 69° Fahr. übten unter den gegebenen Verhältnissen keinen merklichen Einfluß auf die Sterilisationswirkung aus. Betreffs Geschmacks- und Geruchsgrenze wurde festgestellt, daß erst 0,5 bis 0,6 Teile freien Chlors in 1 Million Teile Wasser durch den Geschmack und 1,8 Teile durch Geruch wahrgenommen wurden. A. Müller.

Müller, Paul, Th. Über die Rolle der Protozoen bei der Selbstreinigung stehenden Wassers. Archiv für Hygiene, 1912, **75**, Nr. 6/7, S. 321.

Verf. berichtet zunächst über einige Versuche, die über den Bakteriengehalt des Wassers von Schwimmbädern angestellt wurden. Er konnte die

Beobachtungen von Hesse, Koslik u. a. bestätigen, daß zunächst eine Zunahme, am 2. bis 3. Tage nach der frischen Füllung der Bassins aber eine rapide Abnahme der Bakterien zu beobachten ist. Durch gleichzeitige Verwendung von Gelatine und Hesse-Niednerschem Albumoseagar konnte er weiter zeigen, daß die Keimabnahme, die auf den Gelatineplatten zu konstatieren ist, 3 bezw. 16 mal so stark ist wie die entsprechende, auf dem Albumoseagar festzustellende Abnahme, daß es sich hier also nicht um ein Phänomen handelt, das alle Bakterien der Badewässer gleichmäßig betrifft, sondern daß offenbar nur gewisse Arten nach einigen Tagen in großen Mengen zugrunde gehen, während andere, die eigentlichen „Wasserbakterien", sich entweder in fast unveränderter Zahl erhalten oder aber doch der Vernichtung weit weniger unterliegen.

Im zweiten Teil seiner Arbeit sucht Verf. nachzuweisen, in welchen Beziehungen die Protozoen zu den erwähnten Beobachtungen stehen; denn wenn nach den bisher vorliegenden Versuchen es auch als durchaus möglich angesehen werden muß, daß das Absterben und Verschwinden der Keime auf die Tätigkeit der Protozoen zurückzuführen ist, so steht ein lückenloser Beweis besonders dafür noch aus, daß die bakterienvernichtende Wirkung der Protozoen in quantitativer Hinsicht ausreichend ist, um das rasche Absterben der Gelatinekeime im Badewasser zu erklären. Diesen Beweis sucht Verf. durch gleichzeitige direkte Zählung der Protozoen und Bakterien unter Anwendung des von ihm ausgearbeiteten Zählverfahrens (vgl. Ref. in Bd. I, S. 293 dieser Ztschr.) mit Hilfe von Laboratoriumsversuchen zu erbringen. In seinen Versuchen tritt nach vorübergehender Vermehrung der Bakterien ein rasches Absinken der Keimzahlen ein, das sich nicht nur auf die Gelatinekeime, sondern auf die gesamten im Wasser enthaltenen Bakterien bezieht. Gleichzeitig mit dem Bakterienschwund ist eine lebhafte Vermehrung der Protozoen zu beobachten und zwar gibt sich eine deutliche Beziehung zwischen der Größe und Zahl der neugebildeten Protozoen und der Menge der verschwundenen Bakterien zu erkennen. Wird die Entwicklung der Protozoen unterdrückt, so bleibt in Bestätigung der Befunde von Stokvis das Phänomen des Bakterienschwundes aus. Durch diese Versuche wird auch mit ziemlicher Sicherheit ausgeschlossen, daß die eingangs erwähnten Beobachtungen über den Keimgehalt in Schwimmbassins durch Überwucherung der Wasserbakterien oder eintretenden Nahrungsmangel zu erklären sind. Weitere Versuche machen es durchaus unwahrscheinlich, daß antagonistische Stoffwechselprodukte der Wasserbakterien oder lysinartige, von den Protozoen abgesonderte Stoffe die Abnahme der „Gelatinekeime" mit bedingen. Mit höchster Wahrscheinlichkeit müssen daher als Ursache der plötzlichen Bakterienverminderung die Protozoen angesehen werden. Der Umstand, daß nicht alle Bakterienarten von der Vernichtung in gleichem Maße betroffen werden, läßt sich nach Verf. durch die biologischen Unterschiede der Bakterien und ihre verschiedene Wirkung auf die Protozoen erklären.

A. Müller.

Basch, E. Speisewasserreinigung und Permutitverfahren. Chemiker-Zeitung, 1912, **36**, Nr. 81, S. 769.

Verf. macht in dem vorliegenden Artikel auf die Nachteile aufmerksam, die bei Anwendung des Permutitverfahrens zur Reinigung oder besser gesagt zur Enthärtung des Kesselspeisewassers beobachtet worden sind.

A. Müller.

Paetsch. Einige praktische Erfahrungen beim Betriebe von biologischen Kläranlagen. Gesundheits-Ingenieur 1912, **35**, Nr. 14, S. 281.

Verf. bringt weitere Beispiele für die bekannte Tatsache, daß durch zu lange vorgefaultes Abwasser die Wirkung von biologischen Körpern beeinträchtigt wird, und zeigt, wie man auf einfache Weise unter Umgehung komplizierter Patentverfahren den Oxydationskörper mit relativ frischem Wasser beschicken und gleichzeitig eine hinreichende Ausfaulung des bei der Vorreinigung entfallenden Schlammes erzielen kann. A. Müller.

Haas. Der Karpfenteich am Schlachthof. Allgem. Fischereizeitg., 1912, Nr. 3, S. 68.

Verf. berichtet über eine Karpfenteichanlage in der Nähe des Schlachthofes in Offenburg. Sämtliche Abfälle, die sonst der Kinzig zugeführt wurden, gelangten mit gutem Erfolge zur Verfütterung, so daß nach Ansicht des Verf. die Klärfrage der Schlachthofabwässer eventl. auf diese Weise eine praktische Lösung finden könnte. A. Müller.

Bach. Ein Beitrag zur Frage der Abwasserreinigung durch Salpeterzusatz. Gesundheits-Ingenieur, 1912, **35**, Nr. 17, S. 341.

Die Versuche wurden im Auftrage der Emschergenossenschaft in der Kläranlage Recklinghausen-Ost angestellt. Das dort zu behandelnde Abwasser ist nicht ausschließlich hauswirtschaftlicher Abkunft, sondern enthält auch gewerbliche Abwässer, insbesondere solche von einer Kokereinebenproduktenanlage; seinem Gesamtcharakter nach läßt es sich jedoch als ein relativ frisches, durchaus fäulnisfähiges städtisches Abwasser bezeichnen. Das Abwasser wurde nach dem Passieren der Emscherbrunnen in großen 1 cbm fassenden Gruben mit Mengen von 100 bis 3000 g Chilisalpeter bis zu 6 Tagen stehen gelassen. Von Zeit zu Zeit wurden Proben entnommen, um die Einwirkung des Salpeters auf den Abbau der fäulnisfähigen Substanzen zu ermitteln. In den Proben wurde bestimmt die Menge des gelösten Schwefelwasserstoffs, der gebildeten Nitrite, des freien und an Ammonsalze gebundenen Ammoniaks und des organischen Stickstoffs. Verf. bestätigt, daß durch Salpeterzusatz ein Abbau von fäulnisfähigem Abwasser unter Verminderung der Schwefelwasserstoffentwicklung und Mineralisierung von organischem Stickstoff bewirkt werden kann. Um das zu erreichen, ist jedoch für das vorliegende Abwasser ein Salpeterzusatz von 1 kg/cbm erforderlich, so daß dieses Verfahren der hohen Kosten wegen in

Recklinghausen nicht in Frage kommt. Verf. vermutet, daß die Wirkung bei weniger frischem Abwasser vielleicht günstiger ausfallen würde.

A. Müller.

Schwarz, L. und Nachtigall, G. Über die Behandlung von Trinkwasser mit Chlorkalk. Gesundheits-Ingenieur, 1912, **35**, Nr. 13, S. 256.

Die günstigen Erfahrungen, die man in England und Amerika bei der Verwendung von Chlorkalk zur Behandlung von Trinkwasser gemacht hat, gaben den Verf. Veranlassung, ihrerseits die Einwirkung des Chlorkalkes auf Elbwasser im Laboratorium experimentell zu prüfen. Eine Änderung des Wassergeruchs war 15 Minuten nach der Behandlung in keinem Falle, selbst nicht bei einem Zusatz von 5 mg Chlorkalk zu 1 l Wasser wahrzunehmen. Durch den Geschmack war dagegen das behandelte Wasser auch dann noch vom unbehandelten zu unterscheiden, wenn auf chemischem Wege Chlor nicht mehr nachweisbar war. Passierte das behandelte Wasser noch ein Sandfilter, so machte sich in dem Filtrat erst ein Zusatz von 5 mg Chlorkalk pro 1 l durch den Geschmack bemerkbar. Der Filterdruck in dem Filter, dessen Wasser mit Chlorkalk behandelt war, nahm wesentlich langsamer zu, als in dem Kontrollfilter. Was die Beeinflussung der Keimzahl anlangt, so betrug im unsedimentierten, etwa 6° C warmen Rohwasser bei 1 mg Chlorkalkzusatz die größte Keimabnahme 83 % nach 20 Stunden, bei 2 mg waren von 2340 Keimen in 1 ccm nach 20 Stunden nur noch 18 Keime und bei 3 mg von 3080 Keimen nach 2 Stunden kein Keim in 1 ccm mehr nachzuweisen. Bei einer Wassertemperatur von zirka 20° C wirkte 1 mg Chlorkalk überhaupt nicht merklich auf den Keimgehalt ein und bei 3 und 5 mg wurde das Maximum der Abnahme nach 15 Minuten erreicht und betrug rund 97 %. Die Keimzahlen stiegen hier dann auch beträchtlich schneller wieder an als in dem bei niedriger Temperatur angestellten Versuch.

In sedimentiertem Rohwasser war die Wirkung etwas besser als in unsedimentiertem. Weitere Versuche erstreckten sich auf Wasser, das durch Alaun oder langsame Sandfiltration vorgeklärt war. Es zeigte sich, daß die durch steigenden Alaunzusatz erreichten Abstufungen im Keimgehalt durch 1 und 2 mg Chlorkalk zeitweise nahezu ausgeglichen wurden. Der Chlorkalkzusatz empfiehlt sich erst nach Klärung des Wassers mit Alaun, weil sonst das sich abscheidende Aluminiumhydroxyd mit den organischen Substanzen auch den Chlorkalk aus dem Wasser beseitigt und weil der Chlorkalk um so besser wirkt, je weniger gelöste organische Substanzen noch vorhanden sind. Bei gleichzeitigem Zusatz von 20 bezw. 30 mg Alaun und 3 mg Chlorkalk pro 1 wurde etwa dieselbe Wirkung erzielt, wie mit 2 mg Chlorkalk ohne Alaunzusatz oder wie mit 1 mg Chlorkalk nach vorhergegangener Behandlung mit 20 bezw. 30 mg Alaun.

In dem durch langsame Sandfiltration gereinigten Wasser wurde durch 0.25 mg Chlorkalk pro 1 der Keimgehalt von 250 Keimen pro 1 ccm in 4 bezw. 8 Stunden auf 60 bezw. 52 Keime erniedrigt.

Schließlich stellten die Verf. noch Versuche über die Einwirkung des Chlorkalkes auf Kolibakterien, Leuchtvibrionen, Choleravibrionen und Typhusbakterien an. 5 und 7,5 mg Chlorkalk pro 1 dem Rohwasser unmittelbar vor dem Passieren des Sandfilters zugesetzt, verhinderten nicht den Nachweis von Leuchtvibrionen und B. coli im Filtrat. Erst nach 24stündigem Einwirken von 7,5 mg Chlorkalk auf das mit den Kulturen reichlich versetzte Rohwasser wurde im Filtrat B. coli nur sehr selten nachgewiesen, während die Leuchtvibrionen schon nach 3—6stündigem Einwirken nicht mehr nachweisbar waren.

Choleravibrionen sterilisiertem Elbwasser bis zu 330000 in 1 ccm zugesetzt waren bei einem Chlorkalkzusatz von 3 bis 5 mg nach $^1/_2$ Stunde noch nachweisbar, nach 1 Stunde aber nicht mehr. In nicht sterilisiertem Elbwasser, das im übrigen ebenso behandelt war, waren auch in 1 ccm nach 6 Stunden noch Choleravibrionen nachweisbar, während nach 24 Stunden selbst in 900 ccm der Nachweis derselben nicht mehr gelang. Eine Erhöhung des Chlorkalkgehaltes auf 7,5 mg pro 1 ermöglichte den Nachweis der Choleravibrionen, deren ursprüngliche Zahl 80000 pro 1 ccm betragen hatte, nur noch nach 4 Stunden. Die Versuche mit Typhusbazillen hatten weniger günstige Ergebnisse, hier genügten 5 mg Chlorkalk nicht, um Keime abzutöten.

Aus den Schlußsätzen der Verf. wäre noch hervorzuheben, daß es nicht genügt, durch die chemische Reaktion die Abwesenheit von aktivem Chlor festzustellen, da das Wasser trotzdem einen unangenehmen, faden Geschmack haben kann. Besonders wenn es sich um Oberflächenwasser von wechselnder Zusammensetzung handelt, müssen erst durch längere Vorversuche über die erforderlichen Chlorkalkmengen Erfahrungen gesammelt werden, um unangenehme Folgen zu vermeiden. Für Deutschland dürfte die Chlorkalkbehandlung nur als Vorbehandlung, insbesondere bei nachfolgender Filtration zu empfehlen sein. Nachbehandlung des Filtrates oder Alleinbehandlung des Trinkwassers mit diesem Mittel dürfte nur zu Epidemiezeiten als prophylaktische Maßnahme in Frage kommen. A. Müller.

Schwarzer, G. Beiträge zur Frage der Wasserreinigung. Chemiker-Zeitung, 1912, Nr. 37, S. 333.

Der beim Weichmachen bezw. Entfärben von Gebrauchswässern erhaltene Kalziumkarbonat- bezw. Tonerdehydratschlamm in bestimmter Menge neben dem Enthärtungs- oder Entfärbungsmittel dem weichzumachenden oder zu entfärbenden Wasser zugesetzt bedingt nach Verf. infolge seiner Wirksamkeit als positiver Katalysator eine bedeutend schnellere Klärung des behandelten Wassers als ohne diesen Zusatz. Während z. B. ohne Zusatz von Kalziumkarbonatschlamm die Ausscheidung des Härtebildners erst nach $2^1/_2$ Stunden beendet war, war das gleiche Wasser mit Schlammzusatz bereits nach $^1/_2$ Stunde vollkommen geklärt. A. Müller.

Grimm. Über die Desinfektion von Trinkwasser mit Chlorkalk. Mitt. aus d. Königl. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung u. Abwässerbeseitigung zu Berlin, Heft 16, 1912, S. 297.

Nach Besprechung der hauptsächlichsten über diesen Gegenstand veröffentlichten Arbeiten geht Verf. auf die besonders in Amerika und England gemachten praktischen Erfahrungen näher ein und beschreibt eingehender die Ergebnisse, welche man im Jahre 1911 im Ruhrgebiet mit der Chlorkalkbehandlung erzielt hat. Trotz der ziemlich primitiven Art, in der dort der Zusatz des Chlorkalks erfolgte, waren die Ergebnisse bei Verwendung von 0,66—1,0 Teilen freien Chlors zu 1 Million Teilen Wasser auffallend gute. Da nun die Erfahrungen aus der Praxis mit den bisher bekannten Laboratoriumsversuchen nicht in Übereinstimmung zu bringen sind, so unternahm es Verf., dieselben einer eingehenden Nachprüfung zu unterziehen. Es wurden zunächst Versuche mit Bacterium coli gemacht. Die Vermutung, daß die erwähnten Unterschiede in den Ergebnissen auf die im Verhältnis zur Praxis sehr kurze Einwirkungsdauer des Chlors in den Laboratoriumsversuchen zurückzuführen seien, bestätigte sich nicht. Sämtliche Versuche ergaben, daß bei Zimmertemperatur bei einstündiger Einwirkung in einer Verdünnung bis zu 18 Teilen freien Chlors zu 1 Million Teile Wasser in 100 ccm stets noch Colikeime nachzuweisen waren, auch bei 36 : 1 Million gelang bisweilen noch der Colinachweis. Bei 54 : 1 Million war das Wasser stets steril. Bei 4° C waren die Ergebnisse noch etwas geringer. Die Entfernung etwa vorhandener Bakterienflocken durch Filtration änderte nichts an den Ergebnissen; ebenso nicht die Benutzung von Stuhlaufschwemmungen an Stelle der künstlichen Kulturen von Bacterium coli.

Typhus- und Ruhrbazillen glichen hinsichtlich ihres Verhaltens zum Chlorkalk ganz dem Bacterium coli. Die Wasserbakterien wurden im wesentlichen durch den Chlorkalkzusatz in demselben prozentualen Verhältnis reduziert wie die erwähnten Krankheitskeime, nur zeigte sich bisweilen auch bei sehr hohen Chlorgaben, wahrscheinlich infolge vorhandener Sporen, das Wasser nicht steril.

Weitere Versuche, die mit Bact. coli unter möglichstem Einhalten der in der Praxis üblichen Verhältnisse angestellt wurden, ergaben, daß bei einem Chlorkalkzusatz von 2 : 1 Million erst nach 24stündiger Einwirkungsdauer Sterilität erzielt wird. Verf. kommt daher zu dem Schluß, daß die in der Praxis bei den Wasserwerken zugesetzten Chlorkalkmengen bis zu 2 : 1 Million zu einer vollständigen Desinfektion des Trinkwassers nicht genügen, es sei denn, daß der Chlorkalk, im Verhältnis 2 : 1 Million zugesetzt, 24 Stunden auf ein Wasser einwirken kann, das nur einen geringen Gehalt an organischer Substanz besitzt. A. Müller.

Zur Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten.

II. Teil.

Von **Richard Meißner.**

(Arbeiten aus der Kgl. Württembergischen Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg.)

Einleitung.

Im ersten Teil der Abhandlung[1]) hatte ich zunächst über die Resultate der morphologischen Untersuchung, sowie über das physiologische Verhalten von 35 Kahmheferassen, die auf und in natürlichem Traubensaft gewachsen waren, berichtet. Aus diesen Untersuchungen ergab sich unter anderem, daß unter bestimmten Vegetationsbedingungen sämtliche Kahmheferassen innerhalb weniger Tage eine rapide Säureverminderung des Mostes bewirkten. Allein, so schrieb Wortmann[2]) bereits 1898: „mit der einfachen Konstatierung der Tatsache, daß die Säureverminderung auf Organismen zurückgeführt werden muß, ist an sich nicht viel gewonnen, wenn man bedenkt, daß die verschiedensten Gärungsorganismen des Weines, also nicht nur die Kahmpilze, sondern, wie bereits sicher nachgewiesen wurde, auch die echten Weinhefen (die zugespitzten Hefen, und vor allem Bakterienarten)[3]) unzweifelhaft imstande sind, gewisse Säuremengen des Weines zu verzehren. Einen befriedigenden Einblick in diese Erscheinungen kann man daher nur durch eine wissenschaftliche Erforschung des Wesens derselben gewinnen, indem in erster Linie die Bedeutung der

[1]) Zur Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyzeten. 1. Teil, Landw. Jahrbücher XXX, S. 491—582. Durch meine Übersiedlung zuerst nach Veitshöchheim bei Würzburg und dann nach Weinsberg (Wttbg.) hat sich die Niederschrift des 2. Teiles der Abhandlung wesentlich verzögert. Die Untersuchungen waren zum größten Teil bereits im Jahre 1902 beendet und sollen jetzt im Zusammenhang besprochen werden.

[2]) Wortmann, Jahresbericht der Kgl. Lehranstalt Geisenheim, 1898/99, S. 69.

[3]) Vergl. in dieser Hinsicht besonders die neuerlichen Arbeiten Seiferts u. A.

Säureverzehrung für den Organismus selber klar zu legen wäre, wobei ein spezifisches Verhalten nicht nur der verschiedensten Arten der im Weine vorkommenden Organismen, sondern auch, wie es diesbezüglich für die Weinhefen von mir (Wortmann) bereits nachgewiesen wurde, der einzelnen Rassen derselben Art von vornherein gerechnet werden mußte." Infolgedessen wurde im weiteren Verlauf der bereits von mir veröffentlichten Untersuchungen[1]) die Frage nach der physiologischen Bedeutung der von den Kahmhefen bewirkten Säureverzehrung der Moste und Weine näher ins Auge gefaßt.

Zu den Untersuchungen wurden folgende Kahmheferassen in Reinkultur herangezogen:

Nr. 1c:	Kahm aus	Kolmarer Wein,
„ 3:	„ „	Geisenheimer Apfelwein,
„ 4:	„ „	Bier (Willia anomala),
„ 8:	„ „	Rüdesheimer Wein,
„ 10:	„ „	westpreußischem Heidelbeerwein,
„ 15:	„ „	Cueser Wein,
„ 16:	„ „	1898 Gau Algesheimer Most,
„ 21a:	„ „	schlesischem Birn-Tischwein,
„ 21b:	„ „	demselben Tischwein wie 21a,
„ 31:	„ „	Geisenheimer Essig,
„ 32:	„ „	Gubener Apfelwein,
„ 43:	„ „	Rotwein von Eltville.

Die Reinkulturen — es sind dieselben Rassen, mit welchen die Untersuchungen des 1. Teiles der Abhandlung durchgeführt sind — wurden in zwei Stammkulturen aufbewahrt, und zwar die erste Stammkultur in Freudenreichschen Kölbchen in 10prozentiger Rohrzuckerlösung, um ein und dasselbe Ausgangsmaterial bei späteren Untersuchungen zu besitzen, die zweite Stammkultur in Most in Reagenzgläsern. Letztere Sammlung wurde je nach Bedarf während der vorliegenden Untersuchungen mehrmals umgeimpft.

Die Untersuchungen wurden zum Teil noch in der pflanzenphysiologischen Versuchsstation in Geisenheim am Rhein, zum Teil infolge meiner Übersiedelung nach Weinsberg in der hiesigen Weinbau-Versuchsanstalt ausgeführt. Herr Geheimrat Professor Dr. Wortmann hatte die Liebenswürdigkeit, mir von Geisenheim die auf Mostgelatine über-

[1]) Die Nummern der Kahmhefen sind diejenigen unserer Sammlung.

geimpften Stammkulturen nach Weinsberg zu senden, wofür ich ihm ebenso herzlichen Dank sage, wie für das rege Interesse und die Ratschläge, mit welchen er die nachfolgenden Untersuchungen unterstützte. Zu besonderem Dank bin ich auch den beiden früheren Assistenten der Versuchsanstalt, Herrn Dr. Röhling und Herrn Dr. Schätzlein, verpflichtet, die mich durch Übernahme zahlreicher chemischer Untersuchungen in meiner Arbeit unterstützten.

I. Das Wesen der Säureverminderung des Mostes und Weines durch Kahmhefen.

Um einen befriedigenden Einblick in das Wesen der bereits von verschiedenen Seiten und wiederholt wahrgenommenen Säureverminderung der von den Kahmhefen bewohnten Flüssigkeiten zu gewinnen, wurden bei den Versuchen die betreffenden Kahmheferassen, nachdem sie in sterilem Traubensaft aufgefrischt waren, auf künstlichen Nährlösungen, die neben den erforderlichen Mineralbestandteilen als alleinige Quelle organischer Substanz verschiedene organische Säuren enthielten, kultiviert.

Die Fragen, welche zur Orientierung zuerst beantwortet werden sollten, sind folgende:

1. Wächst überhaupt eine Kahmheferasse in Reinkultur auf künstlichen Nährlösungen, welche je verschiedene organische Säuren als alleinige Quelle organischer Substanz enthalten, und in bejahendem Falle, wächst sie auf diesen verschieden schnell?

2. Kann diese Kahmheferasse in den betreffenden Nährlösungen verschiedene organische Säuren und diese in verschiedenem Grade verarbeiten?

3. Findet ein Verhältnis zwischen Kahmhefe-Wachstum und Säureverbrauch statt?

4. Macht sich ein Unterschied durch verschieden schnelles Wachstum verschiedener Kahmheferassen auf Nährlösungen mit derselben organischen Säure und unter denselben Vegetationsbedingungen bemerkbar?

5. Existiert ein Unterschied zwischen verschiedenen Kahmheferassen in der Fähigkeit, dieselbe organische Säure unter denselben Vegetationsbedingungen zu verbrauchen?

Als organische Säuren kamen in Betracht: Weinsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Bernsteinsäure, Essigsäure und Äpfelsäure.[1] Die angewendete

Nährlösung, der die organischen Säuren einzeln zugegeben wurden, hatte folgende Zusammensetzung:

Nährlösung A: 1000 ccm dest. Wasser, 5 g **Ammoniumphosphat** (als Stickstoffquelle). 5 g tertiäres Kaliumphosphat, 3 g Magnesiumsulfat, 1 g Chlorkalzium, die betreffende organische Säure.

Versuch I. Am 6. Dezember 1900 wurden 60 Kölbchen mit 60 ccm der Nährlösung A beschickt. Als alleinige organische Substanz diente in 12 Kölbchen Weinsäure, in 12 Kölbchen Milchsäure, in 12 Kölbchen Zitronensäure, in 12 weiteren Kölbchen Bernsteinsäure und in den letzten 12 Kölbchen Essigsäure. Der Säuregehalt der 5 Serien à 12 Kölbchen stellte sich folgendermaßen: 1. Serie: 7,5 ‰ Weinsäure; 2. Serie: 6,016 ‰ Zitronensäure; 3. Serie: 5,49 ‰ Milchsäure; 4. Serie: 7,08 ‰ Essigsäure; 5. Serie: 6,844 ‰ Bernsteinsäure.

Die Säurebestimmungen wurden in der Weise ausgeführt, daß 10 ccm der Flüssigkeiten mit $^1/_{10}$ Normalkalilauge titriert und die verbrauchten ccm Lauge auf die betreffenden Säuren berechnet wurden. Als Indikator diente empfindliches Lackmuspapier.

Die Flüssigkeiten wurden, nachdem die Kölbchen mit Wattestopfen versehen und im strömenden Dampf sterilisiert worden waren, mit einer Platinöse der früher angeführten Kahmheferassen, die vorher aus den Freudenreichschen Kölbchen genommen und in sterilem Traubensaft aufgefrischt waren, am 7. Dezember 1900, vorm. 10 Uhr, geimpft. Die Kölbchen wurden auf einem Tisch des Laboratoriums, dessen Temperatur zwischen 16 und 22° C schwankte, dem diffusen Tageslichte ausgesetzt.

Kahmhefe Nr. 1 [1]):

12. Dez. 1900.	Auf Weinsäure . . .	Wenig gewachsen.
	„ Milchsäure . . .	Die Haut bedeckt die halbe Oberfläche der Flüssigkeit.
	„ Zitronensäure . .	$^3/_4$ Flüssigkeitsoberfläche ist von der Haut bedeckt.
	„ Bernsteinsäure .	Wenig gewachsen.
	„ Essigsäure . . .	Sehr wenig gewachsen.
24. Dez. 1900.	Auf Weinsäure . . .	$^1/_4$ Oberfläche ist mit der Haut bedeckt.
	„ Milchsäure . . .	Volle geäderte Decke.
	„ Zitronensäure . .	$^5/_6$ Oberfläche mit der Haut bedeckt (Decke teilweise zu Boden gesunken).
	„ Bernsteinsäure .	Volle faltige Decke.
	„ Essigsäure . . .	$^1/_2$ Oberfläche mit Haut bedeckt.

[1]) Der Einfachheit wegen werden im folgenden die Kahmhefen nur mit den Sammlungsnummern versehen angeführt.

4. Jan. 1901.	Auf Weinsäure . . .	$^1/_4$ Flüssigkeitsoberfläche ist mit Haut bedeckt.
	„ Milchsäure . . .	Gefaltete volle Decke.
	„ Zitronensäure . .	$^5/_6$ Oberfläche ist mit Haut bedeckt (Decke teilweise zu Boden gesunken).
	„ Bernsteinsäure .	Volle gefaltete Decke.
	„ Essigsäure . . .	Volle gefaltete Decke.

Chemische Untersuchung[1]) der Flüssigkeiten am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 7,38 ‰ Säure	— 0,12	— 1,6
2. Milchsäure - „ „ „ 0,90 „ „	— 4,59	— 83,6
3. Zitronensäure - „ „ „ 6,08 „ „	+ 0,07	+ 1,1
4. Bernsteinsäure - „ „ „ 1,18 „ „	— 5,66	— 82,7
5. Essigsäure - „ „ „ 0,60 „ „	— 6,48	— 91,5

Die mikroskopische Untersuchung der Kahmhefen ergab am 4. Januar 1901 folgendes:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: die Zellen haben meist eine ovale Gestalt und sehen gut ernährt aus.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: das gleiche Bild. Die Zellen enthalten kleine Fettkugeln.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: Zellen sind meist oval, selten pastorian.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: neben ovalen Zellformen kommen zahlreiche pastoriane Formen vor. Letztere sind lang und schmal.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: die Zellen sind klein oval, selten pastorian, im Innern mit Fettkugeln versehen. Die Zellen sehen gut ernährt aus.

Kahmhefe Nr. 3:

12. Dez. 1900.	Auf Weinsäure . . .	Etwa $^1/_8$ Oberfläche ist mit einer dünnen Haut bedeckt.
	„ Milchsäure . . .	$^3/_4$ Flüssigkeitsoberfläche mit einer Haut bedeckt.
	„ Zitronensäure . .	Volle Decke.

[1]) Nach der Beendigung der Versuche wurde der noch vorhandene Säuregehalt durch Titration mit n/10 Kalilauge festgestellt und die verbrauchten ccm Lauge auf die betreffenden Säuren umgerechnet.

	Auf Bernsteinsäure .	Wenig gewachsen.
	„ Essigsäure . . .	Volle gefaltete Decke.
24. Dez. 1900.	Auf Weinsäure . . .	$^3/_4$ Oberfläche ist mit einer dünnen, durchlöcherten Decke bedeckt.
	„ Milchsäure . . .	Volle gefaltete Decke.
	„ Zitronensäure . .	Volle glatte Decke.
	„ Bernsteinsäure .	$^3/_4$ dünne, durchlöcherte Decke.
	„ Essigsäure . . .	Dicke, gefaltete Decke.
4. Jan. 1901.	Auf Weinsäure . . .	$^3/_4$ dünne Decke.
	„ Milchsäure . . .	Volle gefaltete Decke.
	„ Zitronensäure . .	Volle glatte, dünne Decke.
	„ Bernsteinsäure .	$^3/_4$ Decke.
	„ Essigsäure . . .	Dicke gefaltete Decke.

Chemische Untersuchung der Flüssigkeiten am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,82 ‰ Säure	— 0,68	— 9,0
2. Milchsäure- „ „ „ 0,27 „ „	— 5,22	— 95,0
3. Zitronensäure- „ „ „ 5,69 „ „	— 0,32	— 5,3
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 6,58 „ „	— 0,26	— 3,9
5. Essigsäure- „ „ „ 0,24 „ „	— 6,84	— 96,6

Die mikroskopische Untersuchung der Kahmhefen ergab am 4. Januar 1901 folgendes:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: die Zellen sind zum Teil rund, zum Teil oval oder pastorian, sie sehen gut ernährt aus.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind meist oval, selten pastorian. Im Innern sind kleine Fettkugeln vorhanden.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: meist pastoriane Zellen, schlecht ernährt. Im Innern Fettkugeln.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen haben eine ovale, selten eine pastoriane Gestalt. Sie sind gut ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: die Zellen haben eine ovale Gestalt. Das Plasma ist substanzarm; in ihm sind Fettkugeln vorhanden.

Kahmhefe Nr. 4:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Wenig gewachsen	$^1/_2$ dünne durchlöch. Decke	$^3/_4$ dünne Decke
„ Milchsäure . . .	$^3/_4$ Decke	Volle glatte Decke	Volle Decke
„ Zitronensäure . .	$^1/_2$ dickere Decke	„ „ „	„ „
„ Bernsteinsäure . .	Volle Decke	„ „ „	„ „
„ Essigsäure . . .	Nicht gewachsen	$^3/_4$ durchlöch. Decke	„ „

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,6 ‰ Säure	— 0,90	— 12,0
2. Milchsäure- „ „ „ 0,81 „ „	— 4,68	— 85,2
3. Zitronensäure- „ „ „ 1,21 „ „	— 4,80	— 79,8
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 2,09 „ „	— 4,75	— 69,4
5. Essigsäure- „ „ „ 0,42 „ „	— 6,66	— 94,0

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval bis rund, selten pastorian.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind rund und oval und enthalten große Fettkugeln.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: die Zellen sind rund und oval und enthalten kleine Fettkugeln.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: das gleiche Bild wie auf der Zitronensäure-Nährlösung.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: desgl.

Kahmhefe Nr. 8:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Wenig gewachsen	$^3/_4$ durchlöch. Decke	$^3/_4$ Decke
„ Milchsäure . . .	Etwa $^1/_8$ Decke	$^1/_2$ „ „	Nahezu volle Decke
„ Zitronensäure . .	Wenig gewachsen	$^1/_2$ „ „	$^3/_4$ dünne Decke
„ Bernsteinsäure . .	$^3/_4$ Decke	Nahezu volle Decke	Volle Decke
„ Essigsäure . . .	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,6 ‰ Säure	— 0,90	— 12,0
2. Milchsäure - „ „ „ 5,04 „ „	— 0,45	— 8,2
3. Zitronensäure - „ „ „ 5,76 „ „	— 0,25	— 4,1
4. Bernsteinsäure - „ „ „ 6,49 „ „	— 0,35	— 5,1

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: ovale und unregelmäßige, plasmaarme Zellen.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: ovale Formen, zum Teil gut ernährt.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: ovale und unregelmäßige Zellformen. Daneben aber auch zahlreiche pastoriane Zellen.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: desgl.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: nicht gewachsen.

Kahmhefe Nr. 10:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Nicht gewachsen	Wen. gewachs., 1/4 D.	1/4 Decke
„ Milchsäure . . .	Wenig gewachsen	1/8 Decke	1/8 „
„ Zitronensäure . .	„ „	3/4 durchlöch. Decke	Dünne volle Decke
„ Bernsteinsäure . .	Etwa 1/8 Decke	1/2 Decke	„ „ „
„ Essigsäure . . .	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen	Wenig gewachsen

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,6 ‰ Säure	— 0,90	— 12,0
2. Milchsäure - „ „ „ 5,22 „ „	— 0,27	— 4,9
3. Zitronensäure - „ „ „ 5,76 „ „	— 0,25	— 4,1
4. Bernsteinsäure - „ „ „ 5,45 „ „	— 0,56	— 9,3
5. Essigsäure - „ „ „ 6,96 „ „	— 0,12	— 1,7

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval, zum Teil recht gut ernährt.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: ovale Zellen, gut ernährt.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: neben ovalen Zellen schmale, kurz pastoriane Formen, schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval; es finden sich im Präparat aber auch zahlreiche kurze, pastoriane Zellen, schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: die Zellen sind meist pastorian, ausgemergelt und zum Teil abgestorben.

Kahmhefe Nr. 15:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	1/8 dünne Decke	1/4 dünne Decke	1/4 dünne Decke
„ Milchsäure . . .	Volle Decke	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke
„ Zitronensäure . .	„ „	Volle glatte Decke	Volle glatte Decke
„ Bernsteinsäure . .	1/8 dünne Decke	1/4 dünne durchlöch. Decke	1/2 durchlöch. Decke
„ Essigsäure . . .	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke	Volle, dicke, gerunzelte Decke

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure-Nährlösung enthält noch 6,75 ‰ Säure	— 0,75	— 0,1
2. Milchsäure- „ „ „ 1,08 „ „	— 4,41	— 80,3
3. Zitronensäure- „ „ „ 5,82 „ „	— 0,19	— 3,1
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 6,72 „ „	— 0,12	— 1,7
5. Essigsäure- „ „ „ 0,36 „ „	— 6,72	— 94,9

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: es kommen im Präparat runde, ovale und breite pastoriane Zellen vor, die gut ernährt aussehen.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: meist runde und ovale Formen. Die Zellen sind gut ernährt.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: meist pastoriane Formen; ovale Zellen seltener. Die Zellen sind ausgemergelt und enthalten Fettkugeln.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind meist oval, selten breit pastorian; sie sind gut ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: sehr viele Zellen tragen Sporen. Die Zellen sind oval gestaltet.

Kahmhefe Nr. 16:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Wenig gewachsen	1/4 dünne durchlöch. Decke	1/4 dünne Decke
„ Milchsäure . . .	Volle geaderte Decke	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke
„ Zitronensäure . .	Volle Decke	Volle glatte Decke	Volle glatte, dünne Decke
„ Bernsteinsäure . .	1/4 Decke	1/2 dünne durchlöch. Decke	Volle Decke
„ Essigsäure . . .	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 7,38 ‰ Säure	— 0,12	— 1,6
2. Milchsäure- „ „ „ 0,72 „ „	— 4,77	— 86,8
3. Zitronensäure- „ „ „ 6,14 „ „	+ 0,13	+ 2,1
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 5,01 „ „	— 1,83	— 26,7
5. Essigsäure- „ „ „ 0,3 „ „	— 6,78	— 95,7

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval bis länglich oval, plasmaarm und das Plasma mit Vakuolen durchsetzt.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind rund und oval, sie sind sehr gut ernährt.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: es kommen im Präparat viele pastoriane Formen vor, die schlecht ernährt sind.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: zum Teil länglich ovale Zellen. Gut ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: runde und ovale Zellen, selten pastorian. Letztere besitzen im Innern Fettkugeln.

Kahmhefe Nr. 21 a:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Wenig gewachsen	1/4 dünne durchlöch. Decke	1/4 dünne durchlöch. Decke
„ Milchsäure . . .	Volle geaderte Decke	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke
„ Zitronensäure . .	Volle Decke	Volle glatte Decke	Volle glatte Decke
„ Bernsteinsäure . .	1/4 Decke	1/2 dünne durchlöch. Decke	Gefaltete volle Decke
„ Essigsäure . . .	Volle gefaltete Decke	Volle gefaltete Decke	Gefaltete volle Decke

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,82 ‰ Säure	— 0,68	— 9,0
2. Milchsäure- „ „ „ 0,81 „ „	— 4,68	— 85,2
3. Zitronensäure- „ „ „ 5,95 „ „	— 0,06	— 0,9
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 3,19 „ „	— 3,65	— 53,3
5. Essigsäure- „ „ „ 0,27 „ „	— 6,81	— 96,1

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: die Zellen sind meist rund oder oval. Gut ernährt.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: ovale, gut ernährte Zellen.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: ovale oder runde Formen. Gut ernährt.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: neben ovalen Zellen kommen im Präparat große pastoriane Formen in Sproßverbänden vor.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: ovale oder kurze und breite pastoriane Formen mit Fettkugeln.

Kahmhefe Nr. 21 b:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Nicht gewachsen	$^1/_2$ durchlöch. Decke	$^1/_2$ Decke
„ Milchsäure . . .	Wenig „	$^1/_2$ „ „	$^1/_2$ „
„ Zitronensäure . .	„ „	$^3/_4$ „ „	$^3/_4$ „
„ Bernsteinsäure . .	$^1/_8$ Decke	$^5/_6$ „ „	$^5/_6$ „
„ Essigsäure . . .	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,75 ‰ Säure	— 0,75	— 10,0
2. Milchsäure - „ „ „ 5,04 „ „	— 0,45	— 8,2
3. Zitronensäure - „ „ „ 5,82 „ „	— 0,19	— 3,1
4. Bernsteinsäure - „ „ „ 6,37 „ „	— 0,47	— 6,8

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: Zellen meist oval, seltener pastorian.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval oder rund, es kommen aber auch breite pastoriane Formen im Präparat vor. Gut ernährt.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: neben ovalen Zellen kommen auch pastoriane vor. Die Zellen enthalten Fettkugeln und sind schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: neben ovalen Zellen auch pastoriane. Die Zellen sind nicht gut ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: nicht gewachsen.

Kahmhefe Nr. 31:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Sehr wenig gewachs.	Wenig gewachsen	Wenig gewachsen
„ Milchsäure . . .	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ durchlöch. Decke	$^3/_4$ Decke
„ Zitronensäure . .	$^1/_8$ „	$^1/_4$ „ „	$^1/_2$ „
„ Bernsteinsäure . .	Nahezu volle Decke	Nahezu volle Decke	Nahezu volle Decke
„ Essigsäure . . .	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,82 ‰ Säure	— 0,68	— 9,0
2. Milchsäure- „ „ „ 4,90 „ „	— 0,59	— 10,7
3. Zitronensäure- „ „ „ 5,76 „ „	— 0,25	— 4,1
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 6,61 „ „	— 0,23	— 3,3

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: Ovale, auch pastoriane Zellen, schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: Ovale und runde, aber auch breite pastoriane Form. Gut ernährt.

Kahmhefen auf der Zitronensäure: Neben ovalen auch pastoriane Formen. Schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure: Neben ovalen und pastorianen Zellen auch unregelmäßig gestaltete. Nicht gut ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure: Nicht gewachsen.

Kahmhefe Nr. 32:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	1/8 Decke	1/4 durchlöch. Decke	1/4 durchlöch. Decke
„ Milchsäure . . .	1/4 „	5/6 Decke	5/6 Decke
„ Zitronensäure . .	1/4 „	1/2 durchlöch. Decke	1/2 durchlöch. Decke
„ Bernsteinsäure . .	Volle Decke	Volle glatte Decke	Volle glatte Decke
„ Essigsäure . . .	Sehr wenig gewachs.	Sehr wenig gewachs.	Wenig gewachsen

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,97 ‰ Säure	— 0,53	— 7,0
2. Milchsäure- „ „ „ 5,13 „ „	— 0,36	— 6,5
3. Zitronensäure- „ „ „ 5,69 „ „	— 0,32	— 5,3
4. Bernsteinsäure- „ „ „ 6,43 „ „	— 0,41	— 5,9
5. Essigsäure- „ „ „ 7,02 „ „	— 0,06	— 0,8

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf der Weinsäure-Nährlösung: Ovale, aber auch pastoriane Zellen, manche hungern stark.

Kahmhefen auf der Milchsäure-Nährlösung: Meist ovale, selten pastoriane Zellen.

Kahmhefen auf der Zitronensäure-Nährlösung: Mehr pastoriane als ovale Zellen, schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: Neben ovalen, viele pastoriane Zellen, schlecht ernährt.

Kahmhefen auf der Essigsäure-Nährlösung: Ausgehungerte ovale und pastoriane Zellen.

Kahmhefe Nr. 43:

	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900	4. Januar 1901
Auf Weinsäure . . .	Wenig gewachsen	3/4 durchlöch. Decke	3/4 Decke
„ Milchsäure . . .	„ „	1/2 „ „	1/2 „
„ Zitronensäure . .	„ „	Wenig gewachsen	Wenig gewachsen
„ Bernsteinsäure . .	„ „	1/4 durchlöch. Decke	1/4 Decke
„ Essigsäure . . .	Sehr wenig gewachs.	Wenig gewachsen	Wenig gewachsen

Chemische Untersuchung am 4. Januar 1901:

	Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
1. Weinsäure - Nährlösung enthält noch 6,75 ‰ Säure	— 0,75	— 10,0
2. Milchsäure - „ „ „ 5,13 „ „	— 0,36	— 6,5
3. Zitronensäure - „ „ „ 5,82 „ „	— 0,19	— 3,1
4. Bernsteinsäure - „ „ „ 6,79 „ „	— 0,05	— 0,7
5. Essigsäure - „ „ „ 6,87 „ „	— 0,21	— 2,9

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 4. Januar 1901:

Kahmhefen auf Weinsäure-Nährlösung: Meist ovale, plasmaarme Zellen.

Kahmhefen auf Milchsäure-Nährlösung: Meist ovale, plasmaarme Zellen.

Kahmhefen auf Zitronensäure-Nährlösung: Meist ovale, plasmaarme Zellen mit einer Fettkugel.

Kahmhefen auf Bernsteinsäure-Nährlösung: Mehr runde ovale Zellen mit einer Fettkugel. Plasmaarm.

Kahmhefen auf Essigsäure-Nährlösung: Runde ovale Zellen vollständig ausgehungert.

Um das Verhalten der Kahmhefen auf **Äpfelsäure**-Nährlösung kennen zu lernen, sei zunächst ein zweiter Versuch angeführt:

Versuch II. Am 29. November 1900 wurden 12 Gärflaschen mit je 1 Liter der Nährlösung A beschickt. Als alleinige organische Substanz diente Äpfelsäure (7,839 $^0/_{00}$ Gesamtsäure auf Äpfelsäure berechnet). Die Gärflaschen wurden, nachdem sie mit Wattestopfen versehen und im strömenden Dampf sterilisiert worden waren, mit einer Platinöse der eingangs angeführten Kahmheferassen, die vorher aus den Freudenreichschen Kölbchen genommen und in sterilem Traubensaft aufgefrischt waren, am 3. Dezbr. 1900 nachm. 4^h geimpft. Die Flaschen wurden wiederum auf einen Tisch des Laboratoriums dem diffusen Tageslicht ausgesetzt.

Kahmhefe	5. Dezember 1900	7. Dezember 1900	9. Dezember 1900	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900
1	$^1/_{16}$ Decke	$^1/_2$ Decke	$^5/_6$ Decke	volle weiße Decke	volle gefaltete Decke
3	wenig gewachs.	$^3/_4$ „	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	volle gelblichweiße Decke
4	„ „	$^1/_4$ „	$^1/_2$ Decke	volle Decke in Faltung	volle weiße gefaltete Decke
8	„ „	$^1/_4$ „	$^1/_2$ „	mehr als $^1/_2$ Decke	$^3/_4$ Decke
10	„ „	$^1/_4$ „	$^1/_2$ „	$^1/_2$ Decke	$^3/_4$ dicke weiße Decke
15	$^1/_2$ Decke	$^3/_4$ „	$^5/_6$ „	$^5/_6$ „	$^5/_6$ dünne weiße Decke
16	$^1/_{12}$ „	$^3/_4$ „	über $^3/_4$ Decke	$^5/_6$ „	volle gefaltete Decke
21 a	wenig gewachs.	wenig gewachs.	$^1/_8$ Decke	$^3/_4$ „	dicke gerunzelte volle Decke
21 b	$^1/_8$ Decke	$^1/_8$ Decke	$^1/_8$ „	$^1/_8$ „	$^1/_4$ Decke
31	wenig gewachs.	wenig gewachs.	$^1/_8$ „	$^1/_4$ „	$^1/_4$ „
32	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ Decke	$^1/_2$ „	$^3/_4$ „	$^3/_4$ „
43	wenig gewachs.	wenig gewachs.	$^1/_4$ „	$^1/_2$ „	$^3/_4$ Decke durchlöchert

Chemische Untersuchung am			Säureverlust in ‰	Säureverlust in % des ursprüngl. Säuregehaltes
7. Januar 1901.	Kahmhefe 1	2,110 ‰ Säure	— 5,729	— 73,0
9. „ 1901.	„ 3	5,7 „ „	— 2,139	— 27,2
16. „ 1901.	„ 4	5,896 „ „	— 1,943	— 24,7
16. „ 1901.	„ 8	7,37 „ „	— 0,469	— 5,9
16. „ 1901.	„ 10	6,7 „ „	— 1,139	— 14,5
16. „ 1901.	„ 15	6,36 „ „	— 1,479	— 18,8
16. „ 1901.	„ 16	3,35 „ „	— 4,489	— 57,2
17. „ 1901.	„ 21 a	2,211 „ „	— 5,628	— 71,8
17. „ 1901.	„ 21 b	7,37 „ „	— 0,469	— 5,9
9. „ 1901.	„ 31	7,37 „ „	— 0,469	— 5,9
17. „ 1901.	„ 32	7,16 „ „	— 0,679	— 8,6

Die mikroskopische Untersuchung ergab am:

9. Januar 1901: Kahmhefe 3: Meist ovale Zellen, gut ernährt.

16. Januar 1901: Kahmhefe 4: Es sind im Präparat sowohl ovale als pastoriane Zellen vorhanden, zum Teil lang pastoriane Formen, die gut ernährt aussehen. Im Innern der Zellen befinden sich mehrere Fettkugeln.

16. Januar 1901: Kahmhefe 8: Unregelmäßige Zellformen, stark abgemagert und mit Fettkugeln versehen.

16. Januar 1901: Kahmhefe 10: Zum Teil pastoriane, zum größeren Teil ovale Zellen. Gut ernährt und plasmareich.

16. Januar 1901: Kahmhefe 15: Ovale Zellen, daneben viele pastoriane.

16. Januar 1901: Kahmhefe 16: Meist ovale Zellen, gut ernährt. Daneben aber auch ausgehungerte Zellen.

17. Januar 1901: Kahmhefe 21a: Meist pastoriane Zellen in Sproßverbänden. Gut ernährt. Im Innern Fettkugeln.

17. Januar 1901: Kahmhefe 21b: Zellen oval, mehrfach pastorian. Gut ernährt.

9. Januar 1901: Kahmhefe 31: Ovale oder pastoriane Zellen. Die Zellen sehen zum Teil recht gut ernährt aus, zum Teil sind sie aber auch ausgehungert.

17. Januar 1901: Kahmhefe 32: Die Zellen sind zum Teil unregelmäßig gestaltet, zum größeren pastorian, zum Teil rund. Ein Teil der Zellen sieht gut ernährt aus, der größere Teil dagegen befindet sich in hungerndem Zustand.

Beantworten wir nun auf Grund des vorliegenden Untersuchungsmaterials die auf Seite 115 aufgeworfenen fünf Fragen:

1. Wächst überhaupt eine Kahmheferasse in Reinkultur auf Nährlösungen, welche je verschiedene organische Säuren als alleinige Quelle organischer Substanz enthalten, und in bejahendem Falle, wächst sie auf diesen verschieden schnell?

A. Schulz hat z. B. in seiner Abhandlung: „Über den Stoffbedarf und den Stoffumsatz des Kahmpilzes (Sacch. Mycoderma)[1]), deren Resultate mehrfach in die Handbücher über Weinbereitung übergegangen sind, behauptet, „daß bei alleiniger Gegenwart der Äpfelsäure kein Kahmpilz erzeugt werden kann (will sagen, daß sich kein Kahmpilz in einer solchen Lösung vermehren kann) und dies nur statthat bei gleichzeitiger Anwesenheit des Alkohols“ in der künstlichen Nährlösung[2]). Vergleichen wir hiermit die Beobachtungen z. B. an Kahmheferasse 1 oder 21a, so finden wir, daß bei ihnen ein energisches Wachstum auf einer Nährlösung eingetreten war, die als alleinige Quelle organischer Substanz Äpfelsäure enthielt. Insofern ist die Beobachtung von Schulz als eine unvollständige anzusehen.

Die obengestellte Frage läßt sich durchaus bejahen. Denn in allen Fällen wurde beobachtet, daß jede der zur Untersuchung herangezogenen Rassen auf künstlichen Nährlösungen, die organische Säuren als alleinige Quelle organischer Substanz enthielten, gewachsen, war. Meistens kann eine Rasse auf verschiedenen organischen Säuren gleich gut wachsen, z. B.

Rasse 1 auf Milchsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Äpfelsäure.
„ 3 „ „ Essigsäure, Äpfelsäure.
„ 4 „ „ Zitronensäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Äpfelsäure.
„ 15 „ „ und Essigsäure usw. usw.

Es kommt aber auch vor, daß eine Rasse nur ein schwaches Wachstum auf verschiedenen Säuren zeigt, wie z. B. Rasse 8, 10, 21b, 31, 32, 43. Wir können also den zweiten Teil der gestellten Frage dahin beantworten, daß eine Kahmheferasse auf verschiedenen organischen Säuren verschieden schnell wächst.

2. Kann diese Kahmheferasse in den betreffenden Nährlösungen verschiedene organische Säuren und diese in verschiedenem Grade verbrauchen?

Sehen wir daraufhin die Resultate der chemischen Untersuchung der Nährlösungen an, auf denen die Kahmhefen vegetiert haben, so

---

[1]) Schulz, Annalen der Önologie, Bd. 7, S. 115—147.

[2]) Schulz, a. a. O. S. 136.

finden wir allerdings, daß eine Kahmheferasse die verschiedenen Säuren, und zwar in verschiedenem Grade verbrauchen kann, z. B. Kahmhefe 1. Am meisten verbrauchte diese Rasse die Essigsäure (6.48 ‰), dann Bernsteinsäure (5.66 ‰), dann Milchsäure (4.59 ‰), dann Weinsäure (0.12 ‰) und endlich Zitronensäure (0.07 ‰). Und wie bei Rasse 1, so trat diese Erscheinung bei den übrigen untersuchten Kahmheferassen auf.

3. Findet ein Verhältnis zwischen Kahmhefewachstum und Säureverbrauch statt.

Auf den ersten Blick gelangt man unter Berücksichtigung der oben angegebenen Beobachtungen zu dem Resultat, daß mit dem stärkeren oder geringeren Wachstum einer Kahmheferasse auf einer Nährflüssigkeit Hand in Hand ein stärkerer oder geringerer Verbrauch der Säure einhergeht, z. B. bei Kahmhefe 3. Auf Essigsäure ist eine dicke gefaltete Decke entstanden, deshalb sehen wir auch eine energische Säureabnahme der Flüssigkeit von 6.84 ‰; desgl. auf Milchsäure. Auf Weinsäure ist nur ¾ dünne Decke gebildet, infolgedessen auch nur 0.68 ‰ Säureabnahme. Noch deutlicher tritt das Gesagte zutage bei denjenigen Rassen, die nur ein geringes Wachstum auf den Nährflüssigkeiten zeigen, wie z. B. bei Rasse 21b. Infolge des geringen Wachstums der Rasse verbleiben in der Nährlösung noch verhältnismäßig hohe Säuregehalte.

4. Macht sich ein Unterschied durch verschieden schnelles Wachstum verschiedener Kahmheferassen auf Nährlösungen mit denselben organischen Säuren und unter denselben Vegetationsbedingungen bemerkbar?

Vergleichen wir die verschiedenen Kahmheferassen in bezug auf ihr Wachstum auf Nährlösungen mit der gleichen organischen Säure, so erkennen wir, daß die verschiedenen Rassen verschieden schnell wachsen. Es wachsen gut auf:

Weinsäure = 0 Rasse.		
Milchsäure:	Rasse 1, 3, 4, 15, 16, 21a	= 6 Rassen
Zitronensäure:	„ 1, 3, 4, 15, 16, 21a	= 6 „
Bernsteinsäure:	„ 1, 4, 8, 16, 21a, 32	= 6 „
Essigsäure:	„ 1, 3, 4, 15, 16, 21a	= 6 „
Äpfelsäure:	„ 1, 3, 4, 16, 21a	= 5 „

Aus den Untersuchungen geht also hervor, daß die Kahmhefen auf Weinsäure-Nährlösung im allgemeinen nur schlecht wachsen. Das Wachstum der Kahmhefen auf der Milchsäure enthaltenden Lösung war ein weit besseres als auf der Nährlösung, die nur Weinsäure als organische Substanz enthielt. Das gleiche gilt von der Zitronen- und Bernsteinsäure. Es war auf den letztgenannten Säure-Nähr-

lösungen die Deckenbildung seitens der Kahmhefen zum Teil eine recht gute. Häufig war das Wachstum der Kahmhefen auf den Essigsäure enthaltenden Nährlösungen das beste. Die Äpfelsäure-Nährlösung ließ 5 Kahmheferassen zu kräftigem Wachstum schreiten.

Es macht sich aber noch ein weiterer Unterschied zwischen den verschiedenen Kahmheferassen den gleichen organischen Säuren gegenüber bemerkbar. Während nämlich die einen Rassen recht gut, z. B. auf Essigsäure-Nährlösung wachsen (Rassen 1, 3, 4, 15, 16, 21a), wachsen andere (Rassen 10, 32, 43) nur wenig, wieder andere (Rassen 8, 21b, 31) überhaupt nicht.

Am günstigsten für das Wachstum der Kahmheferassen zeigte sich die Milchsäure-Nährlösung, sodann absteigend diejenige mit Essigsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure und in weitem Abstand hiervon die Weinsäure-Nährlösung.

Vergleichen wir mit diesen Befunden die Angaben von Schulz, so sehen wir, daß die vorliegenden Untersuchungen andere Resultate ergeben haben, als sie Schulz gefunden hat. Daß dessen Ansicht, auf einer Nährlösung wachse bei alleiniger Gegenwart der Äpfelsäure kein Kahmpilz, unhaltbar ist, wurde bereits angeführt. Schulz sagt ferner[1]), die Bernsteinsäure begünstige die Kahmvegetation in hohem Grade. Dem widerspricht die Beobachtung, daß z. B. die Rassen 3, 15 und 43 sehr wenig auf den Nährlösungen, die nur Bernsteinsäure neben den Mineralbestandteilen enthielten, gewachsen waren. Die Essigsäure soll nach Schulz[1]) „eher störend als nützlich auf die Entwicklung des in Rede stehenden Pilzes" wirken. Dagegen wurde gefunden, daß manche Rassen auf den Essigsäure enthaltenden Nährlösungen gerade am besten und am meisten gewachsen waren, z. B. die Rassen 3, 15, 16 und 21a. Die Beobachtung von Schulz ist also auch in dieser Hinsicht eine unvollständige. Dieser arbeitete nicht mit Reinkulturen und außerdem offenbar mit einem Gemenge solcher Rassen, die sich, wie auch einige der zu den vorliegenden Untersuchungen herangezogenen Rassen zeigen, auf Essigsäurelösungen nicht oder nur gering vermehrten. Um aber allgemeine Resultate zu erhalten, ist es unbedingt notwendig, mit mehreren und verschiedenen Rassen zu arbeiten.

Seifert[2]) fand, daß, ebenso wie der Äthyl-Alkohol innerhalb bestimmter Grenzen die Wachstumsmenge erhöht, auch die Essigsäure

---

[1]) Schulz, a. a. O. S. 143.

[2]) W. Seifert, Untersuchungen über Kahmpilze, Bericht über die Tätigkeit der K. K. chemisch-physiologischen Versuchsstation für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg im Jahre 1900, S. 33.

letztere Eigenschaft in alkoholfreien Nährsubstanzen bis zu einem gewissen Grade besitzt.

5. **Existiert ein Unterschied zwischen verschiedenen Kahmheferassen in der Fähigkeit, dieselbe organische Säure unter denselben Bedingungen zu verbrauchen?**

Auch diese Frage ist zu bejahen. Vergleichen wir die Fähigkeiten der verschiedenen Kahmheferassen, dieselbe organische Säure zu verbrauchen:

a) Die Weinsäure. Sie wurde entsprechend dem geringen Wachstum der 12 Kahmheferassen auf den Nährflüssigkeiten in allen untersuchten Fällen nur wenig verbraucht. Das Minimum des Säureverbrauches betrug 0,12 ‰ = 1,6 % des ursprünglichen Säuregehaltes, das Maximum nur 0,9 ‰ = 12 % des ursprünglichen Säuregehaltes. 10 Rassen verbrauchten zwischen 0,53—0,9 ‰ Weinsäure, d. i. 7—12 % des ursprünglichen Säuregehaltes.

Diese Befunde stimmen mit denen anderer Forscher überein, z. B. auch mit denen von A. Schulz[1]). Auch Schaffer[2]) konnte nachweisen, daß der Weinsteingehalt trotz des Wachstums der Kahmhefen auf Wein unverändert blieb. Ebenso fand Seifert[3]), daß Weinsäure und Weinstein von den Kahmpilzen wenig oder gar nicht angegriffen werden.

b) Die Milchsäure. Von 6 Kahmheferassen wurde die Milchsäure nahezu verbraucht. Es sind dies die Rassen 1, 3, 4, 15, 16, 21a, also diejenigen Rassen, welche auf den Nährlösungen mit den betreffenden Säuren auch gut wachsen. Das Maximum des Säureverbrauchs betrug 5,22 ‰ = 95 % des ursprünglichen Säuregehaltes, das Minimum 0,27 ‰ = 4,9 % des ursprünglichen Säuregehaltes. 6 Kahmheferassen (8, 10, 21b, 31, 32, 43) verbrauchten zwischen 0,27—0,45 ‰ Milchsäure, d. i. 4,9—8,2 % des ursprünglichen Säuregehaltes.

c) Die Zitronensäure. Die Kahmhefen, welche auf den Nährlösungen mit Zitronensäure als alleiniger Quelle organischer Substanz gewachsen sind, haben offenbar andere Säuren gebildet[4]). Infolgedessen

[1]) Schulz, a. a. O. S. 143.

[2]) F. Schaffer, Über den Einfluß der Mycoderma vini auf die Zusammensetzung des Weines. (Schw. Wochenschrift für Pharmacie, 1891, Nr. 25; Kochs Jahresbericht II, S. 149—150).

[3]) W. Seifert, Untersuchungen über Kahmpilze, Bericht über die Tätigkeit der K. K. chemisch-physiologischen Versuchsstation für Wein und Obstbau in Klosterneuburg im Jahre 1900, S. 33.

[4]) In dieser Abhandlung sollen die Nebenprodukte, welche infolge des Wachstums der Kahmhefen und der Zersetzung der organischen Säuren entstehen, nicht angeführt werden. Das bleibt einer späteren Abhandlung vorbehalten.

können wir mit einer Ausnahme, Kahmhefe 4, trotz des guten Wachstums der Kahmhefen nur eine geringe Gesamtsäureabnahme konstatieren, ja in zwei Fällen sogar eine geringe Gesamtsäurezunahme. Kahmhefe 4 hat aber 4,80 ‰ Zitronensäure = 79,8 % des ursprünglichen Säuregehaltes verzehrt. So ist es zu erklären, daß Seifert[1]) zu der Annahme kommt, die Zitronensäure werde von den Kahmhefen wenig oder gar nicht angegriffen.

d) Die Bernsteinsäure. Von 3 Kahmheferassen (Nr. 1, 4 und 21 a) wurde verhältnismäßig viel Säure verzehrt: 5,66—4,75—3,63 ‰ Bernsteinsäure = 82,7—69,4—53,3 % der ursprünglichen Säuregehalte. Kahmhefe 16 verzehrte 1,83 ‰ Bernsteinsäure = 26,7 % des ursprünglichen Säuregehaltes. Die Säureabnahmen, die durch die übrigen 8 Rassen verursacht wurden, bewegten sich zwischen 0,05 ‰ Abnahme als Minimum und 0,56 ‰ als Maximum = 0,7—9,3 % der ursprünglichen Säuregehalte. Hierzu schreibt Seifert[2]): „Die Einwirkung der verschiedenen Kahmpilze auf den Alkohol ist gleichfalls sehr verschieden; einzelne greifen denselben nur wenig an. Dieselbe Mannigfaltigkeit zeigt sich in dem Verhalten zu den Säuren des Weins, insbesondere zu der Äpfelsäure und Bernsteinsäure.“ Die Beobachtung deckt sich also mit der hier gemachten, vorausgesetzt, daß in diesem Falle nicht andere Säuren gebildet worden sind.

e) Die Essigsäure. 6 Rassen (1, 3, 4, 15, 16, 21 a) haben nahezu die in den Nährlösungen vorhandene Essigsäure verzehrt, zwischen 6,48—6,84 ‰ Essigsäure = 91,5—96,6 % der ursprünglichen Säuregehalte. 3 Rassen (8, 21 b, 31) sind überhaupt nicht gewachsen. Drei weitere Rassen (10, 32, 43) griffen die Essigsäure nur wenig an. Die Säureabnahme schwankt bei diesen Rassen zwischen 0,06 und 0,21 ‰ Essigsäure = 0,8—2,9 % der ursprünglichen Säuregehalte. Seifert[2]) kommt in seiner Arbeit zu dem Resultat, daß fast ausnahmslos von den Kahmpilzen flüchtige Säuren gebildet werden; diese werden bei längerer Einwirkung wieder verbraucht. Lafar[3]) beschrieb andererseits einen Kahmpilz, der in Bier allmählich bis zu 1,098 % Essigsäure nach 12 Tagen bildete, die aber nachher von dem Pilze selbst wieder nahezu vollkommen verbraucht wurde, so daß das Bier nach 32 Tagen nur noch etwa 0,001 % enthielt.

f) Die Äpfelsäure. Am meisten hat Rasse 1 die Äpfelsäure verzehrt, nämlich 5,729 ‰ = 73 % des ursprünglichen Säuregehaltes. Ziem-

[1]) Seifert, a. a. O. S. 33.

[2]) Seifert, a. a. O. S. 33.

[3]) Lafar, Centralblatt f. Bakt. XIII, 21.

lich stark angegriffen wurde die Äpfelsäure von den Rassen 21a und 16: 5,628 bezw. 4,489 ‰ Säureabnahme = 71,8 bezw. 57,2 % der ursprünglichen Säuregehalte. 4 Rassen (3, 4, 10, 15) haben Säure verzehrt zwischen 2,139 und 1,139 ‰, d. i. 27,2—14,5 % der ursprünglichen Säuregehalte. Die Flüssigkeiten, auf denen die letzten drei 3 Rassen (32, 8, 21b) gewachsen sind, zeigen Säureabnahme von 0,679—0,469 ‰, d. i. 8,6—5,9 % der ursprünglichen Säuregehalte.

Nach der Beantwortung der früher aufgeworfenen fünf orientierenden Fragen kommen wir nun zur Hauptfrage: Welche Bedeutung haben die angeführten sechs organischen Säuren für die Kahmhefen selbst? Oder anders gefragt: Zu welchem Zwecke zerstören denn die Kahmhefen die verschiedenen organischen Säuren? Durch die Beantwortung dieser Frage erst dringen wir ein in das Wesen der Säureverminderung der Moste und Weine durch die Kahmhefen, in das Wesen von Erscheinungen von nicht nur weittragender praktischer Bedeutung, sondern auch von „Vorgängen, die in rein wissenschaftlicher Richtung noch ganz unaufgeklärt sind"[1]).

Wenn man die Hand- und Lehrbücher über Weinbereitung nachschlägt, um sich über die Art und Weise zu orientieren, auf welche die Kahmhefen auf die verschiedenen Most- und Weinbestandteile einwirken, so findet man nicht selten die Anschauung vertreten, daß die Zerstörung derselben auf einem Oxydationsprozeß beruht.

Pasteur[2]) sagt hierüber: „Die Mycoderma aceti muß um jeden Preis entfernt werden, da sie notwendig den Wein stichig macht, während die Mycoderma vini in dieser Hinsicht nicht angreifend ist. Sie bemächtigt sich des Sauerstoffs der Luft und überträgt ihn auf den Alkohol nach der Weise der Mycoderma aceti; aber während diese Wasser und Essigsäure bildet, transformiert die Mycoderma vini den Alkohol in Wasser und Kohlensäure. Da die Verbrennung, welche sie hervorruft, vollständig ist, bringt sie nichts Schädliches in den Wein." Im Jahre 1869, also vor dem Erscheinen der 2. Auflage von Pasteurs Etude sur le vin, hatte aber Adolf Mayer[3]) bereits hervorgehoben, daß die Beobachtung Pasteurs einmal nicht ganz scharf ist, da er stets noch das Entstehen von Aldehyd beobachtet habe. „Die Pasteursche Beobachtung ist außerdem äußerst unvollständig und durchaus nicht die Wirkung von Mycoderma vini auf den Wein erschöpfend, da sich die Mycoderma

[1]) Wortmann, Jahresbericht der K. Lehranstalt Geisenheim 1898/99, S. 69.

[2]) Pasteur, Etude sur le vin, 2. Ausg. Paris 1873. S. 24.

[3]) Adolf Mayer, Untersuchungen über die alkoholische Gärung, den Stoffbedarf und den Stoffwechsel der Hefepflanze. Heidelberg 1869. S. 47—51.

auf Kosten einer Menge anderer, im Weine enthaltener Substanzen zu ernähren imstande ist. Ich habe zuerst die Beobachtung gemacht, daß man Mycoderma vini mit großer Üppigkeit auf den Destillationsrückständen vergorener Flüssigkeiten nach Alkoholbestimmungen, also auf ganz alkoholfreien Flüssigkeiten erziehen kann. Anfangs sehr erstaunt über diese Tatsache, die ein neues Licht warf auf die Einwirkung von Mycoderma-Vegetation auf vergorene Flüssigkeiten, stellte ich eine größere Reihe von Vegetationsversuchen mit Mycoderma vini an und fand deren Fähigkeit, auf Destillationsrückständen vergorener Flüssigkeit zu vegetieren, ganz allgemein. Es gelang mir später, üppige Mycoderma vini-Häute auf Flüssigkeiten zu erziehen, die salpetersaures Ammoniak, die Aschenbestandteile meiner bestgärenden Flüssigkeiten und außerdem entweder Alkohol oder Glyzerin oder auch Bernsteinsäure enthielten . . . Auf Zuckerlösung konnte bei Versorgung mit salpetersaurem Ammoniak und demselben Aschenzusatz Mycoderma vini nicht fortgebracht werden."

An anderer Stelle heißt es weiter: „Ob Mycoderma vini in allen Fällen nur höhere Oxydationsstufen der organischen Körper bildet, auf deren Kosten es lebt, ist mir noch mehr als zweifelhaft. So schien, z. B. bei der Vegetation auf Glyzerin Buttersäure oder Baldriansäure zu entstehen, welcher Prozeß außer der Oxydation den Zerfall des Glyzerins in einem O-reichen und O-ärmeren Körper voraussetzt. Auch bei der Vegetation auf Kosten von Bernsteinsäure bilden sich sicher noch andere Körper als Wasser und Kohlensäure, von denen aber natürlich notwendig ist, größere Mengen entstehen zu lassen, ehe man ihre Natur feststellen kann. Diese Beobachtungen machen es begreiflich, wie Mycoderma vini sehr vortrefflich auf Destillationsrückständen vergorener Flüssigkeiten, die also keinen Alkohol mehr enthalten, gedeiht, und es dürfte die Einwirkung dieser Bildung auf den Wein eine viel kompliziertere sein, als man bisher geahnt hat."

Mayer vermutet also schon ganz richtig, worin das Wesen der Säureverzehrung durch die Kahmhefen liegt.

Trotzdem finden wir auch bei Reeß[1]) die Ansicht vertreten, „daß der Kahmpilz nicht als Ferment, sondern als Verwesungspilz auf sein Substrat wirkt. Er überträgt den atmosphärischen Sauerstoff auf Wein und Bier".

Auch Bersch[2]) sagt: „Der Weinkahm vermag nach diesen Versuchen sowohl Alkohol und Weinsäure zu zerlegen, und zwar scheint,

[1]) Reeß, Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870. S. 70—74.
[2]) Bersch, Die Krankheiten des Weines. 1873. S. 213.

wie aus einem später anzuführenden Versuche hervorgeht, immer neben den vollständigen Verbrennungsprodukten, Kohlensäure und Wasser eine Anzahl anderer Oxydationsprodukte saurer Natur gebildet zu werden."

In der größten Arbeit „Über den Stoffbedarf und den Stoffumsatz des Kahmpilzes" macht A. Schulz[1]) auf Grund seiner Untersuchungen, wie A. Mayer, darauf aufmerksam, daß der Alkohol durch den Kahmpilz die mannigfachsten Umbildungen erleidet, wodurch also der Ausspruch, daß der Alkohol durch den Kahmpilz zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird, nicht mehr berechtigt ist. „Der Kahmpilz oxydiert den Alkohol nicht nur allein zu Kohlensäure und Wasser, sondern bildet aus demselben eine Reihe anderer Bestandteile, namentlich auch diejenigen seines Zellleibes"[2]). Durch Schulz war zum ersten Male experimentell der Nachweis erbracht, daß der Kahmpilz bei alleiniger Gegenwart von salpetersaurem Ammoniak, Alkohol und den nötigen Aschenbestandteilen die ihn konstituierenden organischen Verbindungen aus Alkohol sich selbst erzeugen kann, ohne daß irgend eine andere organische Verbindung hierzu hatte dienen können.

Trotz dieser Arbeit finden wir bei späteren Autoren die Wirkung der Kahmhefen auf ihr Nährsubstrat immer noch bloß als Oxydationswirkung hingestellt, so namentlich bei Windisch[3]). Dieser Autor schreibt: „Die Einwirkung des Kahmpilzes auf die Weinbestandteile ist eine sehr eingreifende. Er oxydiert zunächst den Alkohol zu Kohlensäure und Wasser, gleichzeitig oxydiert er auch Extraktbestandteile, insbesondere die Säuren des Weines, zu Kohlensäure und Wasser. Daneben entstehen noch kleine Mengen von schlecht riechenden und schmeckenden Stoffen, wahrscheinlich von Buttersäure und Baldriansäure oder anderen Fettsäuren. Die vom Kahmpilze befallenen Weine zeigen daher eine mehr oder weniger starke Verminderung des Alkohol-, Extrakt- und Säuregehaltes."

Fragen wir nach der Bedeutung der organischen Säuren für die Kahmhefen selbst, so ergibt eine mikroskopische Untersuchung der auf den Nährlösungen gewachsenen Rassen ohne weiteres die Antwort: die wenigen ausgesäten Zellen haben sich in dem einen Falle ungemein

---

[1]) A. Schulz, Annalen der Önologie. 1878. Bd. VII, S. 115—147.

[2]) A. Schulz, a. a. O. S. 143.

[3]) K. Windisch, Die chemische Untersuchung und Beurteilung des Weines. 1896, S. 35.

stark vermehrt. Sie sehen sehr gut ernährt aus, besitzen mittleren oder gar starken Glykogengehalt und weisen in ihrem Innern Fettkugeln auf. Aber in einem andern Falle sieht man nur wenige und dann stark hungernde, plasmaarme, meist keine oder nur geringe Mengen von Glykogen enthaltende Zellen.

Wenn aber eine starke Vermehrung der Kahmhefen und damit ein starker Verbrauch der allein vorhandenen organischen Säuren stattfand, so mußten letztere auch als organische Baustoffe des Zellleibes, also zur Herstellung von plasmatischer Eiweißsubstanz, von Zellwänden, Fett, Glykogen usw. verwendet werden. Mit anderen Worten: Die organischen Säuren werden von den verschiedenen Kahmhefe-rassen in ihren Ernährungsprozeß hineingezogen, wobei die Säuren zerstört und in andere chemische Verbindungen umgewandelt werden. Darin liegt zunächst die Bedeutung der organischen Säuren für das Leben der Kahmhefen selbst. Das, was Ad. Mayer richtig vermutet, was von A. Schulz für den Alkohol des Weines nachgewiesen wurde, hat hier seine experimentelle Bestätigung auch für die organischen Säuren gefunden. Von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet kann man die oben angeführten Resultate auch dahin zusammenfassen, daß die verschiedenen organischen Säuren sich in bezug auf ihre Brauchbarkeit als organische Baustoffe den verschiedenen Kahmhefen gegenüber verschieden verhalten. Meist vermag eine Rasse mehrere organische Säuren gleich gut auszunützen, andere wieder nicht. Es darf das verschiedenartige Verhalten der einzelnen Rassen den verschiedenen organischen Säuren gegenüber nicht wundernehmen, da eben die verschiedenen Organismen mit verschiedenen Eigenschaften begabt sind. Es zeigt sich gerade bei der Einwirkung der Kahmhefen auf die organischen Säuren sehr deutlich der Unterschied zwischen den einzelnen Kahmhefen: was die eine Rasse zu tun vermag, dazu braucht eine andere noch längst nicht befähigt zu sein.

Die organischen Säuren haben aber zweitens für das Leben der Kahmhefen die Bedeutung, daß sie letzteren als Kraftquelle zur Unterhaltung der verschiedenen gleichzeitig sich abspielenden Lebensprozesse der Zellen dienen. Die Säuren werden veratmet; es findet, wie man früher schon ganz richtig angenommen hat, ein Oxydationsprozeß statt und infolgedessen eine Zerstörung der Säuren bis in die Endprodukte der Oxydation, Wasser und Kohlensäure.

Und drittens werden bei der Verarbeitung der genannten organischen Säuren von den Kahmhefen andere chemische Verbindungen als

Stoffwechselprodukte gebildet, offenbar auch andere Säuren, durch deren Auftreten die Erscheinung bedingt ist, daß der Lösung unangenehme Geruchs- und Geschmackstoffe mitgeteilt werden, wie eine Kostprobe der Nährlösungen, auf denen die Kahmhefen gewachsen sind, unzweifelhaft ergibt. Es werden aber auch aus den Säuren, wie bereits im ersten Teil der Abhandlung nachgewiesen wurde und wie aus späteren Versuchen ebenfalls hervorgehen wird, alkalisch reagierende Substanzen von den Kahmhefen erzeugt, die einen Teil der vorhandenen Säuren neutralisieren und also zu einer Säureverminderung der Nährflüssigkeit beitragen.

II. Die Bedeutung anderer organischer Bestandteile des Mostes und Weines für das Leben der Kahmhefen.

1. Der Zucker.

Wie wir bereits gesehen haben, hatte Ad. Mayer die Beobachtung gemacht, daß die Kahmpilze auch auf Nährlösungen wachsen, die Glyzerin enthalten. „Auf Zuckerlösung konnte dagegen bei Versorgung mit salpetersaurem Ammoniak und demselben Aschenzusatz Mycoderma vini nicht fortgebracht werden“[1]. Nach Berschs Untersuchungen konnten außer Alkohol, Weinstein, Essigsäure auch Traubenzucker und eine Reihe anderer Produkte des Weines, die er aber nicht näher bezeichnet, mit in den Kreislauf der Zersetzung durch den Kahm gezogen werden[2]. Schulz vertritt die Ansicht, daß der Alkohol des Weines die mannigfachsten Umbildungen erleidet, daß Glyzerin die Kahmvegetation in hohem Maße begünstigt, daß dagegen der Traubenzucker ein weniger günstiges Nahrungsmittel des Kahmpilzes ist[3]. Nach Seifert[4] ist die „Einwirkung der verschiedenen Kahmpilze auf den Alkohol sehr verschieden: einzelne greifen denselben nur wenig an.... Manche Kahmpilze sind imstande, Glyzerin zu bilden, unter geeigneten Verhältnissen aber auch zum Verschwinden zu bringen. . . . In Dextroselösung wird von einigen Kahmpilzen Säurebildung hervorgerufen, während sich dieselben Maltose- und Saccharoselösung gegenüber indifferent verhalten. . . . Die Ausscheidung hydrolisierender Enzyme, wie Invertase und Maltase, wurde bei keinem der untersuchten Kahmpilze beob-

[1]) A. Mayer, a. a. O. S. 47—51.

[2]) vgl. Schulz, a. a. O. S. 137.

[3]) Schulz, a. a. O. S. 131 und 137.

[4]) Seifert, a. a. O. S. 33.

achtet.". Lindner[1]) sagt: „Obwohl Kahmhefen einzelne Zuckerarten für ihr Wachstum gebrauchen können, ist damit noch nicht immer die Gärfähigkeit gegeben. Der Kahmpilz vermag Rohrzucker, Maltose und Milchzucker nicht zu assimilieren, dafür vermag er sich aber die bei der Alkoholgärung entstehenden Produkte, wie Alkohol, Bernsteinsäure und Glyzerin, auch die durch Essigbakterien erzeugte Essigsäure nutzbar zu machen."

Man ist sich also darüber einig, daß die Kahmhefen Alkohol und Glyzerin zerstören können. In bezug auf die Zerstörung des Zuckers bestehen dagegen Differenzen: Schulz hält den Traubenzucker für ein weniger günstiges Nahrungsmittel des Kahmpilzes, Mayer konnte auf Zuckerlösung keine Kahmvegetation erhalten, nach Bersch unterliegt der Traubenzucker der Zerstörung. Nach Seifert und Lindner wachsen auf Rohrzuckerlösungen mit den entsprechenden Aschenbestandteilen die Kahmhefen nicht.

Um über diesen Gegenstand völlige Klarheit zu bekommen, wurden folgende Fragen zur Beantwortung gestellt:

1. Wächst überhaupt eine Kahmheferasse in Reinkultur auf Nährlösungen, welche entweder Trauben- oder Rohrzucker als alleinige Quelle organischer Substanz enthält, und in bejahendem Falle wächst sie auf diesen verschieden schnell?

2. Macht sich ein Unterschied durch verschieden schnelles Wachstum verschiedener Kahmheferassen auf Nährlösungen mit Trauben- oder Rohrzucker unter sonst gleichen Bedingungen bemerkbar?

Versuch III. Mit Traubenzucker. Am 29. November 1900 wurden 11 Flaschen mit der Nährlösung A, welcher als organische Substanz Traubenzucker zugefügt worden ist, gefüllt. Jede Flasche enthielt 1 Liter der betreffenden Lösungen. Nach der chemischen Untersuchung enthält die Nährflüssigkeit 6,66 % Traubenzucker. Die Impfung der Nährlösungen geschah nach der Sterilisation derselben am 3. Dez. 1900, nachmittags 4 Uhr, und zwar mit den Kahmheferassen Nr. 1, 3, 8, 10, 15, 16, 21a, 21b, 31 und 32.

Die Pilzkulturen stammten aus Freudenreichschen Kölbchenkulturen und waren vor der Impfung in sterilem Traubensaft aufgefrischt. Je eine Platinöse hiervon wurde auf die Oberfläche der Nährflüssigkeit gesetzt. Die Kulturflaschen waren mit Wattestopfen verschlossen und standen im Laboratorium bei Zimmertemperatur. Die Beobachtungen über das Wachstum der Kahmhefen führten zu folgendem Ergebnis:

---

[1]) Lindner, Mikrosk. Betriebskontrolle. II. Aufl. 1898. S. 287.

Wachstum der Kahmhefen auf Traubenzucker:

Kahmhefe-rasse	5. Dezember 1900	7. Dezember 1900	9. Dezember 1900	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900
1	$^{1}/_{8}$ Decke	über $^{1}/_{2}$ Decke	$^{5}/_{6}$ Decke	volle Decke, die sich eben faltet	volle gefaltete Decke
3	sehr geringes Wachstum	$^{1}/_{2}$ Decke	volle Decke, erste Faltung	Decke breit geadert	volle geaderte Decke
4	$^{1}/_{4}$ Deeke	$^{3}/_{4}$ „	nahezu volle Decke	volle Decke	volle Decke
8	$^{1}/_{2}$ „	$^{3}/_{4}$ „	$^{3}/_{4}$ zarte Decke	nahezu volle $^{3}/_{4}$ dünne Decke	wie am 12. Dez.
10	geringes Wachstum	geringes Wachstum	$^{3}/_{4}$ ganz dünne, kaum sichtbare Haut	ganz dünne Decke	wie am 12. Dez.
15	fast volle Haut	volle glatte Decke	volle mehlig bestäubte Decke	wie am 9. Dez.	volle dünne rötliche Decke
16	$^{1}/_{12}$ Decke	volle geaderte Decke	volle fein geaderte Decke	breit geaderte Decke	breit geaderte volle Decke
21 a	volle mehlig bestäubte Decke	volle gefaltete Decke	feine gekröseförmige Decke	feine gekröseförmige Decke	wie am 12. Dez.
21 b	$^{1}/_{8}$ Decke	$^{1}/_{2}$ Decke	$^{3}/_{4}$ Decke	$^{3}/_{4}$ Decke	$^{3}/_{4}$ durchlöcherte dünne Decke
31	halbe Decke	mehr als halbe Decke	$^{3}/_{4}$ „	$^{3}/_{4}$ „	$^{3}/_{4}$ durchlöcherte Decke
32	$^{1}/_{4}$ Decke	mehr als $^{1}/_{4}$ Decke	mehr als $^{1}/_{4}$ Decke	$^{1}/_{2}$ „	$^{1}/_{2}$ Decke

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten auf Traubenzucker fand vom 7.—17. Januar 1901 statt; es wurden folgende Resultate gefunden:

	Kahm Nr.										
	1	3	4	8	10	15	16	21 a	21 b	31	32
Ursprüngl. Zuckergehalt in % . .	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66
Späterer Zuckergehalt in % . .	6,09	6,09	5,81	6,33	6,41	5,55	5,48	6,18	6,18	6,33	5,75
Abnahme d. Zuckergehaltes in % .	0,57	0,57	0,85	0,33	0,25	1,11	1,18	0,48	0,48	0,33	0,91

Die Kulturen wurden bei der chemischen Untersuchung auch mikroskopisch betrachtet und es wurde festgestellt, daß eine Infektion durch andere Organismen nicht stattgefunden hatte.

Aus den beiden letzten Tabellen ersieht man ohne weiteres, daß durch das Wachstum der Kahmhefen eine größere oder geringere Abnahme des Traubenzuckers in den Nährlösungen eintritt, daß also der Traubenzucker in dem einen Falle eine sehr gern von den Kahmhefen angenommene Kohlenstoffquelle ist, in dem anderen dagegen nicht.

Um zu sehen, ob der Traubenzucker noch in stärkerem Maße von den Kahmhefen verbraucht wird, wenn man ihre Wachstumsbedingungen noch günstiger gestaltet, indem man außer dem Traubenzucker eine zweite kohlenstoffhaltige Quelle in der Gestalt von z. B. Äpfelsäure gibt, wurden am 3. Dez. 1900 in 11 weiteren Flaschen dieselben Nährlösungen A wie in Versuch III gegeben. Außer den mineralischen Stoffen wurde der Nährlösung 6,66 % Traubenzucker und 7,83 ‰ Äpfelsäure hinzugefügt und nun die Nährflüssigkeiten mit denselben Kahmheferassen geimpft. Die Beobachtungen ergaben folgendes Resultat:

Wachstum der Kahmhefen auf Traubenzucker und Äpfelsäure:

Kahmheferasse	5. Dezember 1900	7. Dezember 1900	9. Dezember 1900	12. Dezember 1900	24. Dezember 1900
1	1/2 Decke	volle gefaltete Decke	volle gekröseartig gefaltete Decke	dicke runzelige Decke	dicke runzelige Decke
3	geringes Wachstum	1/4 Decke	gewebeartig gefaltete Decke	dicke gerunzelte Decke	dicke gerunzelte Decke
4	1/4 Decke	gewebeartig gefaltete Decke	desgl.	wie am 9. Dez.	volle dicke Decke
8	1/2 „	3/4 Decke	mehr als 3/4 Decke	5/6 Decke	nahezu volle Decke
10	gering. Wachst.	1/4 „	über 1/2 Decke	über 3/4 Decke	5/6 Decke
15	volle, mehlig bestäubte Decke	gewebeartig gefaltete Decke	gekröseartig gefaltete Decke	dicke gerunzelte Decke	wie am 12. Dez.
16	1/6 Decke	gekröseartig gefaltete Decke	gekröseartig dicke Decke	desgl.	desgl.
21 a	dicke, mehlig bestäubte Decke	desgl.	blumenkohlähnl. gestaltete Decke	wie am 9. Dez.	wie am 9. Dez.
21 b	1/4 Decke	mehr als 3/4 Decke	glatte volle Decke	desgl.	desgl.
31	2/3 „	desgl.	nahezu volle Decke	desgl.	desgl.
32	1/2 „	desgl.	5/6 Decke	nahezu volle Decke	wie am 12. Dez.

Bei der chemischen Untersuchung wurden folgende Ergebnisse erzielt:

	Kahm Nr.										
	1	3	4	8	10	15	16	21 a	21 b	31	32
Ursprüngl. Zuckergehalt in %	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66	6,66
Nachträgl. Zuckergehalt in %	4,17	4,35	0,10	6,17	6,41	4,84	3,22	2,22	6,58	6,09	5,74
Abnahme d. Zuckergehaltes in %	2,49	2,31	6,56	0,49	0,25	1,82	3,44	4,44	0,08	0,57	0,92
Ursprüngl. Säuregehalt in ‰	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83
Späterer Säuregehalt in ‰	6,90	7,03	8,71	7,00	6,36	7,30	7,77	6,36	7,00	7,37	7,00
Abnahme d. Säuregehaltes in ‰	0,93	0,80	+ 0,88	0,83	1,47	0,53	0,06	1,47	0,83	0,46	0,83

Aus diesen letzten Tabellen ersieht man, daß durch die Zugabe von Äpfelsäure zur Traubenzuckerlösung in einigen Fällen ein stärkerer Verbrauch des Traubenzuckers durch die Kahmhefen erfolgte. In dieser Hinsicht zeichnen sich besonders die Rassen 1, 3, 4, 15, 16 und 21a aus, während bei den übrigen der Traubenzuckerverbrauch fast ebenso gering geblieben ist, wie in denjenigen Nährlösungen, die nur Traubenzucker als alleinige organische Nährstoffquelle erhielten. Hierzu gehören die Rassen 8, 10, 21b, 31 u. 32. Interessant ist es zu verfolgen, wie die Kahmhefen sich in bezug auf die Säureverzehrung bei Gegenwart und Abwesenheit von Traubenzucker verhalten. In Versuch II sind die Kahmhefen auf der Nährlösung A wie in Versuch III gewachsen, nur enthielt die Nährflüssigkeit A damals allein Äpfelsäure (7,83 ‰) als kohlenstoffhaltige Quelle, während sie im Versuch III einmal nur Traubenzucker, das andere Mal Traubenzucker und Äpfelsäure erhielt. Vergleicht man die Tabelle im Versuch II und III, so findet man, daß, wenn den Kahmhefen nur Äpfelsäure zur Verfügung steht, diese Säure von einigen Kahmheferassen in viel höherem Maße zerstört wird, als dann, wenn die Nährlösung neben der Äpfelsäure noch Traubenzucker enthält. Als Beispiel sei nur eines herausgegriffen. Die Kahmhefe 1 verzehrte, als ihr nur Äpfelsäure in der Nährlösung geboten wurde, 5,729 ‰, während bei Gegenwart von Traubenzucker dieselbe Rasse unter denselben Lebensbedingungen nur 0,93 ‰ Säure in derselben Zeit aus den Nährlösungen

zum Verschwinden brachte. Dafür war aber der Verbrauch an Traubenzucker ein bedeutend größerer, als wenn die Kahmhefe auf einer Nährlösung mit Traubenzucker allein vegetierte. Es ist allerdings dabei zu berücksichtigen, daß bei der Zerstörung des Traubenzuckers auch Säuren durch die Kahmhefen gebildet werden.

Überblickt man die bisher gefundenen Resultate der Versuche II und III, so kann man die zum Versuch herangezogenen Kahmhefen in zwei Gruppen teilen: Die erste Gruppe zeichnet sich dadurch aus, daß sie auf einer solchen Nährlösung mit Traubenzucker allein besser wächst, als auf einer solchen Nährlösung, welche Äpfelsäure als alleinige Kohlenstoffquelle besitzt. Diese Gruppe liebt also den Traubenzucker mehr als die Äpfelsäure. Das Gesagte tritt namentlich dann in die Erscheinung, wenn man den Kahmhefen aus dieser Gruppe Traubenzucker und Säure zu gleicher Zeit verabreicht: Sie ziehen in diesem Falle den Traubenzucker der Säure vor (vergl. Kahm Nr. 1, 3, 4, 15, 16, 21 a).

Die zweite Gruppe von Kahmhefen, zu denen z. B. die Rasse Nr. 10 gehört, nimmt den Traubenzucker nur ungern auf, verarbeitet dafür aber die dargebotene Äpfelsäure auch dann, wenn der Kahmhefe Traubenzucker und Säure als Nahrung geboten wird.

Endlich sei auf die Tatsache hingewiesen, daß in künstlichen Nährlösungen, welche als Kohlenstoffquelle organische Säuren enthalten, die Kahmhefedecken nicht die charakteristischen Färbungen bekommen, wie man sie z. B. auf Traubensaft beobachtet[1]), sondern daß die Decken eine schneeweiße Farbe behalten, während sie auf Traubenzuckerlösung sich ebenfalls z. T. färben.

Versuch IV. Mit Traubenzucker und Rohrzucker. Der Versuch III wurde am 21. Januar 1901 wiederholt. Es wurde eine künstliche Nährlösung benutzt, welche folgende Zusammensetzung besaß:

Nährlösung B. Auf 1 Liter destilliertes Wasser: 5 g tertiäresphosphorsaures Kalium, 3 g schwefelsaures Magnesium, 1 g primären phosphorsauren Kalk, 5 g **salpetersaures Ammonium** (als Stickstoffquelle).

Diese Nährlösung B unterscheidet sich von der Nährlösung A dadurch, daß an Stelle des phosphorsauren Ammoniums das salpetersaure Ammon und an Stelle des Chlorkalziums der primäre phosphorsaure Kalk getreten ist. Als organische Substanz wurde dieser Nährlösung B in dem einen Falle 10 % Traubenzucker, in dem anderen je 10 % Rohrzucker beigefügt, die Flaschen mit 100 ccm Nährflüssigkeit sterilisiert und dann mit Hilfe eines Platindrahtes mit den Kahmheferassen Nr. 1,

---

[1]) Meißner, a. a. O. I. Teil, S. 508 ff.

3, 4, 8, 10, 15, 16, 21a, 21b aus 6 Tage alten Kulturen am 21. Januar 1901 übergeimpft.

Die Beobachtungen ergaben folgende Resultate:

a) Wachstum der Kahmhefen auf Traubenzuckerlösung:
(Die Temperatur wurde zwischen 19 und 21 ° C gehalten.)

Kahm Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
1	gewachsen	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ dünne Decke	dünne Decke	volle gerunzelte Decke	wie am 31. Jan.	volle gefaltete Decke
3	volle Decke	volle geaderte Decke	weiß geaderte Decke	volle gefaltete Decke	desgl.	desgl.	desgl.
4	dickere weiße Decke	volle gefaltete Decke	volle geaderte Decke	desgl.	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	desgl.
8	etwas gewachsen	$^1/_8$ Decke	über $^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke
10	—	—	—	—	etwas gewachsen	$^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke
15	volle gefaltete Decke	volle gefaltete weiße Decke	volle gerunzelte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke (violettrot)	volle gerunzelte Decke
16	geaderte Decke	stark gefaltete weiße Decke	dicke gerunzelte Decke	dicke gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke	volle dicke gerunzelte Decke	volle gefaltete Decke
21 a	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke	desgl.	desgl.	dicke gerunzelte Decke	desgl.
21 b	sehr wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_{32}$ Decke	etwa $^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ Decke	desgl.

b) Wachstum der Kahmhefen auf Rohrzuckerlösung:

Kahm Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
1	gewachsen	$^3/_4$ dünne Decke	dünne Decke	dünne Decke	volle dünne Decke	volle glatte Decke	voll gefaltete Decke

Kahm Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1801	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
3	nahezu volle Decke	nahezu volle dünne Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	desgl.	volle glatte Decke
4	feine volle Decke	volle Decke	volle Decke	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
8	nichts zu sehen	—	—	—	—	—	sehr wenig gewachsen
10	—	—	—	—	—	—	desgl.
15	$^1/_2$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke
16	dünne volle Decke	dünne volle Decke	dünne volle Decke	dünne volle Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
21a	über $^1/_2$ Decke	über $^1/_2$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	desgl.	desgl.
21b	sehr wenig gewachsen	$^1/_2$ Decke	$^1/_2$ Decke	$^1/_2$ Decke	über $^1/_2$ Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke

Aus diesem Versuch geht also des weiteren hervor, daß verschiedene Kahmhefen auch in künstlichen Nährlösungen, denen als alleinige Quelle organischer Substanz Rohrzucker beigefügt worden ist, sehr gut wachsen können. Es sind also die Ansichten Seifferts, Lindners, Schulzs, Mayers in dieser Hinsicht nicht haltbar[1]).

Versuch V. Mit Trauben- und Rohrzucker. Wegen der in der Literatur sich widersprechenden Angaben über die Verwertung des Trauben- und Rohrzuckers durch die Kahmhefen wurde noch ein weiterer Versuch angestellt, bei welchem die Nährlösung B Verwendung fand. Dieser wurden 5 % Rohrzucker bezw. 5 % Traubenzucker hinzugefügt. Die Kölbchen, welche mit Wattestopfen verschlossen waren, erhielten je 100 ccm dieser Nährflüssigkeiten, die nach der Sterilisation am 1. Dez. 1901 mit 5 Tage alten Kahmhefekulturen geimpft wurden. Verwendet wurden die Kahmheferassen 1, 3, 4, 15, 16 und 21a.

[1]) Anm. d. Red. In meiner im Jahre 1906 erschienenen Abhandlung „Über den Einfluß von Mycoderma auf die Vermehrung und Gärung der Hefen", Zeitschr. f. d. landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich, Bd. 9, 1906, S. 690 und Tabelle I auf Seite 693 wurde gleichfalls die Assimilation von Rohrzucker durch eine Kahmhefe, in meiner Abhandlung, Bd. 6, 1903, S. 731, Tabelle I durch hautbildende Saccharomyceten nachgewiesen.

Die Beobachtungen ergaben folgende Wachstumsverhältnisse der Kahmhefen auf den Nährflüssigkeiten:

a) auf 5 %iger Traubenzuckerlösung:

Kahm Nr.	3. Dezbr. 1901 mittags $^1/_2$1 Uhr	3. Dezbr. 1901 abends 11 Uhr	4. Dezbr. 1901 abends 6 Uhr	8. Dezbr. 1901 nachm. $^1/_4$4 Uhr	17. Dezbr. 1901
1	$^3/_4$ Decke	volle Decke	volle glatte Decke	volle sich faltende Decke	volle Decke
3	volle glatte Decke	volle glatte Decke	sich faltende Decke	volle gefaltete Decke	gefaltete Decke
4	$^1/_3$ Decke	volle glatte Decke	sich faltende Decke	volle Decke	volle Decke
15	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	sich faltende Decke	gefaltete Decke	leicht gerunzelte Decke
16	volle Decke	volle Decke	sich faltende Decke	" "	gefaltete Decke
21 a	volle zarte Decke	volle glatte Decke	sich faltende Decke	" "	" "

b) auf 5 %iger Rohrzuckerlösung:

Kahm Nr.	3. Dezbr. 1901 mittags $^1/_2$1 Uhr	3. Dezbr. 1901 abends 11 Uhr	4. Dezbr. 1901 abends 6 Uhr	8. Dezbr. 1901 nachm. $^1/_4$4 Uhr	17. Dezbr. 1901
1	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ Decke	$^1/_2$ Decke
3	$^1/_8$ "	$^1/_3$ "	$^3/_4$ "	$^3/_4$ "	$^3/_4$ "
4	$^1/_2$ "	$^3/_4$ "	$^5/_6$ "	$^5/_6$ "	volle Decke
15	$^1/_2$ "	$^3/_4$ "	$^5/_6$ "	$^5/_6$ "	$^5/_6$ Decke
16	über $^1/_2$ Decke	über $^3/_4$ Decke	$^5/_6$ "	$^5/_6$ "	$^5/_6$ "
21 a	$^1/_8$ Decke	" $^1/_8$ "	über $^1/_2$ Decke	nahezu $^3/_4$ Decke	nahezu $^3/_4$ Decke

Auch durch diesen Versuch ist der Beweis erbracht, daß Trauben- und Rohrzucker zur Bildung neuer Kahmhefezellen Verwendung finden können, daß aber Traubenzucker hierzu besser geeignet ist als der Rohrzucker.

2. Der Alkohol.

Schon A. Schulz[1]) hatte durch seine Untersuchungen gefunden, daß der Alkohol durch den Kahmpilz die mannigfachsten Umbildungen erleidet, wodurch also der Ausspruch, daß der Alkohol durch den Kahmpilz nur zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird, nicht mehr berechtigt ist. Er war auch der Erste, welcher, wenn er auch nicht mit Kahmhefereinkulturen arbeitete, die Vermutung aussprechen konnte, daß der Alkohol direkten Anteil an dem Aufbau des Kahmpilzes nimmt. Die Menge des zerstörten Alkohols ist nach Schulz um so größer, je un-

[1]) Schulz, a. a. O., S. 142.

günstiger die Ernährungsbedingungen des Kahmpilzes sind. Ebenso verhält es sich auch mit der Bildung der flüchtigen Säuren. Die von Schulz über die Bedeutung des Alkohols für das Leben der Kahmhefen gemachten Beobachtungen, haben durch die vorliegenden Untersuchungen ihre volle Bestätigung gefunden.

Versuch VI. Am 21. Januar 1901 wurden 9 Kölbchen mit je 100 ccm Nährlösung B, welcher als organische Substanz 5 Volum-Prozent absoluter Alkohol (98 prozentig) zugefügt war, gefüllt, mit Wattestopfen versehen und nach der Sterilisation mit einem Platindraht mit den Kahmheferassen 1, 3, 4, 8, 10, 15, 16, 21a und 21b geimpft.

Die Kulturen waren 6 Tage alt. Die Beobachtungen der Kulturen ergaben folgende Resultate:

Kahm-Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
1	gewachsen	1/4 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke
3	1/2 Decke	nahezu volle Decke	volle Decke	volle Decke	volle gefaltete Decke	dicke gerunzelte Decke	dicke gerunzelte Decke
4	3/4 feine Decke	volle Decke	volle Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
8	3/4 dünne Decke	volle Decke	volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
10	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wie am 25. Jan.	wie am 25. Jan.	etwas gewachsen	etwas gewachsen	nahezu 1/4 Decke
15	volle dünne Decke	sich faltende Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke	dicke gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke
16	volle glatte Decke	gefaltete volle Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke	dicke gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke
21a	nahezu volle Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	dicke gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke	dicke gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke
21b	1/8 Decke	1/8 Decke	1/4 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke

Von der Mehrzahl der zum Versuch herangezogenen Kahmhefen wird der Alkohol zum Aufbau des Zellleibes sehr stark benutzt, nur Kahmheferasse Nr. 1, 21 b und vollends Rasse 10 zeigen auf der alkoholischen Nährlösung ein geringeres Wachstum als die übrigen Rassen.

3. Das Glyzerin.

Schon Mayer beobachtete das Auftreten von Kahm auf Lösungen von Glyzerin und ebenso kommt Schulz[1]) zu dem Schluß, daß das Glyzerin die Kahmvegetation in hohem Grade begünstigt. Wie sich die Kahmhefen in Reinkultur einer künstlichen Nährlösung gegenüber, welche als alleinige organische Substanz nur Glyzerin besitzt, verhalten, wurde durch einen neuen Versuch ermittelt:

Versuch VII. Am 21. Januar 1901 wurden je 100 ccm der Nährlösung B mit 5 Volumprozent Glyzerin versetzt, die Flaschen mit Wattestopfen verschlossen, sterilisiert und dann mit den 6 Tage alten Kahmhefekulturen Nr. 1, 3, 4, 8, 10, 15, 16, 21 a und 21 b mittels eines Platindrahtes geimpft.

Der Versuch ergab folgende Beobachtungen:

Kahm-Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
1	—	wenig gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	über 1/8 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
3	1/2 Decke	nahezu volle Decke	volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	sich faltende Decke	desgl.
4	nahezu volle Decke	volle Decke	desgl.	desgl.	desgl.	volle glatte Decke	desgl.
8	etwas gewachsen	1/32 Decke	1/32 Decke	1/8 Decke	1/4 Decke	nahezu halbe Decke	über 1/2 Decke
10	desgl.	etwas gewachsen	wenig gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	1/32 Decke
15	1/4 Decke	über 1/2 Decke	volle glatte Decke	wie am 26. Jan.	wie am 26. Jan.	wie am 26. Jan.	wie am 26. Jan.

[1]) Schulz, a. a. O., S. 143.

Kahm-Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
16	1/2 Decke	über 3/4 Decke	desgl.	desgl.	sich faltende Decke	volle gefaltete Decke	volle glatte Decke
21 a	etwas gewachsen	1/4 Decke	über 1/4 Decke	nahezu halbe Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
21 b	etwa 1/32 Decke	1/32 Decke	über 1/32 Decke	1/8 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	1/2 Decke

Die Tabelle sagt, daß das Glyzerin, wie der Alkohol, von einigen Kahmhefen sehr gern aufgenommen und als Baustoff verwendet wird. Infolgedessen ist das Wachstum der Kahmhefen auf den Glyzerin-Nährlösungen ein recht starkes. Andere Kahmhefen vermögen das Glyzerin nur schlecht zu assimilieren z. B. die Rassen 8, 10 u. 21b.

4. Asparagin.

Da sich nach Schulz[1]) das Asparagin für die Ernährung des von ihm untersuchten Kahmpilzes günstig erwies, so wurden die im Versuch VII genannten Kahmheferassen am 21. Januar 1901 auf je 100 ccm sterile Nährlösung B, welcher als alleinige kohlenstoffhaltige Substanz 5 % Asparagin hinzugesetzt war, mit Hilfe eines Platindrahtes geimpft.

Versuch VIII. Wirkung des Asparagins auf die Kahmhefen.

Kahm-Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
1	—	—	—	—	—	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
3	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	wenig gewachsen
4	etwas gewachsen	1/32 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	über 3/4 Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke
8	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	wenig gewachsen

[1]) Schulz, a. a. O. S. 137.

Kahm-Nr.	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
10	—	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	über $^1/_{32}$ Decke	etwas gewachsen	$^1/_8$ Decke
15	—	—	desgl.	desgl.	etwas gewachsen	$^1/_4$ Decke	$^1/_4$ Decke
16	etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	wenig gewachsen	wenig gewachsen	etwas gewachsen	$^1/_4$ Decke
21 a	desgl.	desgl.	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	über $^1/_8$ Decke	über $^1/_8$ Decke
21 b	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	nahezu $^1/_2$ Decke	$^1/_2$ Decke

Man erkennt ohne weiteres aus dieser Tabelle, daß das Asparagin durchaus nicht so gern von den Kahmhefen verarbeitet wird, wie es Schulz darstellt. Denn von den zum Versuch herangezogenen 9 Kahmheferassen zeigen 8 ein verhältnismäßig geringes Wachstum auf den Asparagin-Nährlösungen. Nur die Kahmheferasse 4 bringt es zu einer Deckenbildung zeigt also eine kräftigere Verarbeitung des Asparagins. Allerdings gibt Schulz auf Seite 138 seiner Abhandlung auch an, daß weder das salpetersaure, noch das weinsaure Ammoniak, noch das Asparagin für sich allein verabreicht zur Ernährung des Kahmpilzes befähigt ist, daß hingegen jene 3 stickstoffhaltigen Verbindungen bei alleiniger Gegenwart von Alkohol verhältnismäßig große Mengen von Kahmferment zu erzeugen vermögen". Daß auch diese Anschauung nicht haltbar ist, geht aus dem Versuch VIII deutlich hervor, bei welchem trotz der Anwendung des salpetersauren Ammoniums und des Asparagins die Kahmheferasse Nr. 4 doch ein intensives Wachstum, also eine gute Ernährung der Kahmhefezellen zeigte. Wie sich das weinsaure Ammonium als Nährstoffquelle zu den Kahmhefen verhält, wurde durch den folgenden Versuch IX festgestellt.

5. Weinsaures Ammonium.

Versuch IX. Einfluß des weinsauren Ammoniums auf die Kahmhefen. Die in Versuch VII angeführten Kahmheferassen wurden auf 100 ccm sterile Nährlösung B, welche mit 5 % weinsaurem Ammonium versetzt war, am 21. Januar 1901 geimpft. Die Beobachtungen sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

Kahm-Nr.	4. Februar 1901	7. Februar 1901
1	—	—
3	wenig gewachsen	wenig gewachsen
4	desgl.	desgl.
8	—	—
10	—	sehr wenig gewachsen
15	—	desgl.
16	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
21a	—	—
21b	etwas gewachsen	sehr wenig gewachsen

Das weinsaure Ammonium ist also eine äußerst schlechte Nährstoffquelle für die Kahmhefen, was offenbar daran liegt, daß die Weinsäure nur schlecht von den Kahmhefen assimiliert wird (vergl. in dieser Hinsicht Versuch I).

III. Einfluß verschiedener Stickstoffverbindungen auf das Wachstum der Kahmhefen.

Nach Schulz[1]) „zeigen sich alle Ammoniumsalze, namentlich diejenigen, welche an organische Säuren gebunden sind, tauglich zur Stickstoffernährung des Kahmpilzes". Allerdings benutzte Schulz zur Beantwortung dieser Frage eine künstliche Nährlösung, welche neben Alkohol auch Bernsteinsäure enthielt. Bei einem anderen Versuch jedoch, bei welchem nicht Alkohol, sondern in dem einen Falle salpetersaures Ammonium, im andern Falle Asparagin als Stickstoffquelle neben verschiedenen organischen Säuren gegeben waren, konnte Schulz kaum eine Entwicklung der Kahmhefe beobachten[2]). Und deshalb kommt er zu der Anschauung, „daß weder das salpetersaure, noch das weinsaure Ammoniak, noch das Asparagin für sich allein verabreicht, zur Ernährung des Kahmpilzes befähigt ist, daß jene 3 stickstoffhaltigen Verbindungen bei alleiniger Gegenwart von Alkohol verhältnismäßig große Mengen von Kahmhefeferment zu erzeugen vermögen".

A. Versuche mit salpetersaurem Ammonium als Stickstoffquelle.

Versuch X. Um Klarheit in dieser Frage zu bekommen, wurden die in Versuch VII aufgeführten Kahmheferassen am 21. April 1901 in die künstliche Nährlösung B geimpft, welche als Stickstoffquelle salpeter-

[1]) Schulz, a. a. O. S. 137.
[2]) Schulz, a. a. O. S. 141.

saures Ammonium und als Kohlenstoffquelle 10 ‰ Säure (Bernsteinsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure, Milchsäure, Essigsäure und Weinsäure) enthielt. Durch den Versuch sollte festgestellt werden, ob bei Gegenwart des salpetersauren Ammoniums und der entsprechenden organischen Säuren dieselben negativen Resultate gefunden würden, wie sie Schulz anführt[1]), oder ob die Säuren unter Zuhilfenahme der Stickstoffverbindung von den wachsenden Kahmhefen abgebaut werden. Die Beobachtungen haben im einzelnen folgendes ergeben:

Kahmhefe Nr. 1. Kahm aus Colmarer Wein.

Säure	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	—	—	—	etwas gewachsen	$^3/_4$ Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Zitronensäure	—	—	—	—	—	—	—
Äpfelsäure	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke
Milchsäure	etwas gewachsen	$^1/_8$ Decke	$^1/_3$ Decke	$^1/_2$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	desgl.
Essigsäure	—	—	—	—	—	—	—
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	—

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehaltes
Bernsteinsäure . .	7,68	1,77	5,91	76,9
Äpfelsäure	8,13	2,68	5,45	67,0
Milchsäure	7,63	2,25	5,38	70,5

Die mikroskopische Untersuchung der Kahmhefe 1 zeigte folgendes:

[1]) Schulz, a. a. S. 141 (Versuche 64—75 u. 85—96).

Kahmhefe auf Bernsteinsäurenährlösung. Die Zellen sind oval, vielfach langgestreckt gestaltet, in vielen Zellen ist ein mittlerer Glykogengehalt vorhanden, in anderen kein Glykogen.

Kahmhefe auf Äpfelsäurenährlösung: Die Zellen sind entweder oval oder schmal länglich gestaltet, arm an Plasma, Glykogengehalt ein mittlerer.

Kahmhefe auf Milchsäurenährlösung: Die Zellen sind oval und rund, das Plasma ist gut ernährt. Der Glykogengehalt ein mittlerer.

Kahmhefe Nr. 3. Kahm aus Geisenheimer Apfelwein:

Säure	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	—	etwas gewachsen	kreisrunde Decke von $1^1/_2$ cm Durchmesser	$^1/_4$ Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Zitronensäure	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_4$ Decke	$^3/_4$ Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Milchsäure	$^1/_4$ Decke	nahezu $^1/_2$ Decke	$^3/_4$ Decke	nahezu volle Decke	desgl.	desgl.	desgl.
Essigsäure	$^1/_4$ Decke	ziemlich volle Decke	weiße volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	desgl.	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke
Weinsäure	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	wenig gewachsen

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehaltes
Bernsteinsäure . .	7,68	0,41	7,27	94,6
Äpfelsäure	8,13	0,67	7,46	91,7
Milchsäure	7,63	1,53	6,10	79,9
Essigsäure	8,10	0,19	7,91	97,6

Die mikroskopische Untersuchung der Kahmhefe Nr. 3 ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Auf Bernsteinsäure-Nährlösung: Es sind ovale, auch birnförmige und pastoriane Formen vorhanden. Der Glykogengehalt ist in manchen Zellen ein mittlerer, in anderen Zellen ist Glykogen nicht vorhanden.

Auf Äpfelsäure-Nährlösung: Die Zellen sind oval und länglich gestaltet, plasmaarm, reich an Vakuolen, auch unregelmäßige Zellformen kommen vor. Der Glykogengehalt ist z. T. ein starker, in anderen Zellen ist Glykogen nicht vorhanden.

Auf Milchsäure-Nährlösung. Die Zellen sind oval und rund gestaltet, das Plasma ist gut ernährt und stark glykogenhaltig.

Auf Essigsäure-Nährlösung: Die Zellen sind groß oval, mit Fettkugeln versehen, das Plasma ist gut ernährt und stark glykogenhaltig.

Kahmhefe Nr. 4. Kahm aus Bier (Willia anomala).

Säure	24. Jan. 1901	25. Jan. 1901	26. Jan. 1901	27. Jan. 1901	31. Jan. 1901	4. Febr. 1901	7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_4$ Decke	über $^3/_4$ Decke	weiße volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Zitronensäure	desgl.	wenig gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke
Äpfelsäure	desgl.	desgl.	etwas gewachsen	etwas gewachsen	über $^1/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke
Milchsäure	$^1/_4$ Decke	$^1/_2$ Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Essigsäure	—	—	—	—	—	—	—
Weinsäure	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	wenig gewachsen

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehaltes
Bernsteinsäure . .	7,68	0,89	6,79	88,4
Zitronensäure . . .	10,51	3,68	6,83	64,9
Äpfelsäure	8,13	4,69	3,44	42,3
Milchsäure	7,63	0,20	7,43	97,3

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901:

Kahmhefe auf Bernsteinsäure-Nährlösung: Die Zellen zeigen z. T. sehr lange Formen, vorherrschend jedoch sind die ovalen Zellen. Ein Geruch der Flüssigkeit nach Essigäther wird nicht wahrgenommen. Glykogen kaum vorhanden.

Kahmhefe auf Zitronensäure-Nährlösung: Neben ovalen Zellen kommen langgestreckte mit einer Fettkugel vor. Das Plasma ist gut ernährt, der Glykogengehalt mittel bis stark.

Kahmhefe auf Äpfelsäure-Nährlösung: Die Flüssigkeit zeigt keinen Geruch nach Essigäther. Die Zellen sind meist oval bis länglich oval. Das Plasma ist gut ernährt, der Glykogengehalt stark.

Kahmhefe auf Milchsäure-Nährlösung: Die Zellen sind oval, rund, z. T. auch pastorian. Das Plasma ist gut ernährt, der Glykogengehalt mittelmäßig.

Kahmhefe Nr. 8. Kahm aus Rüdesheimer Wein.

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	etwas gewachsen	1/32 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	1/2 Decke	über 1/2 Decke
Zitronensäure	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	1/32 Decke
Äpfelsäure	etwas gewachsen	1/32 Decke	1/32 Decke	1/8 Decke	1/8 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke
Milchsäure	desgl.	1/32 "	1/32 "	desgl.	1/8 "	1/2 Decke	1/2 Decke
Essigsäure	—	—	—	—	—	—	—
Weinsäure	—	—	—	—	—	wenig gewachsen	wenig gewachsen

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehalts
Bernsteinsäure . .	7,68	5,91	1,77	23,0
Zitronensäure . . .	10,51	10,19	0,32	3,0
Äpfelsäure	8,13	6,91	1,22	15,0
Milchsäure	7,63	7,27	0,36	4,7

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Kahmhefe auf Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind meist oval, aber auch unregelmäßig gestaltet, Glykogengehalt mittel.

Kahmhefe auf Äpfelsäure-Nährlösung: es kommen ovale und unregelmäßige, halbmondförmige Zellformen vor, das Plasma ist vakuolenhaltig und der Glykogengehalt ein mittlerer.

Kahmhefe auf Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind rund und oval gestaltet, in einigen Zellen ist das Plasma gut ernährt, andere Zellen enthalten ein substanzarmes Plasma. Glykogengehalt mittel.

Kahmhefe Nr. 10. Kahm aus westpreußischem Heidelbeerwein.

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	über $^1/_{32}$ Decke	$^1/_8$ Decke
Zitronensäure	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^1/_8$ Decke	über $^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke	$^1/_4$ Decke
Milchsäure	desgl.	desgl.	desgl.	etwas gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_8$ Decke	$^1/_8$ Decke
Essigsäure	—	—	—	—	—	—	—
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	wenig gewachsen

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehalts
Bernsteinsäure . .	7,68	7,09	0,59	7,6
Äpfelsäure	8,13	7,11	1,02	12,5
Milchsäure	7,63	7,36	0,27	3,5

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Kahmhefe auf Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind zur Hälfte oval gestaltet, zur Hälfte sind sie schmal, langgestreckt. Das Plasma ist gut ernährt, glänzend. Der Glykogengehalt der Zellen ist z. T. ein guter.

Kahmhefe auf Äpfelsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet und das Plasma ist gut ernährt. Der Glykogengehalt ist in den meisten Zellen ein sehr starker, in anderen Zellen wird Glykogen nicht gefunden.

Kahmhefe auf Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet mit großen Fettkugeln. Der Glykogengehalt ist in manchen Zellen stark.

Kahmhefe Nr. 15. Kahm aus Cueser Wein.

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	1/4 Decke	3/4 Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Zitronensäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	1/8 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	1/2 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	1/2 Decke	3/4 Decke	über 3/4 Decke	nahezu volle Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Essigsäure	$^{1}/_{8}$ Decke	nahezu volle Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	desgl.	volle schwach gerunzelte Decke	gerunzelte Decke
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	—

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehalts
Bernsteinsäure . .	7,68	1,18	6,50	84,6
Zitronensäure . . .	10,51	9,98	0,53	5,0
Äpfelsäure	8,13	6,77	1,36	16,7
Milchsäure	7,63	1,66	5,97	78,2
Essigsäure	8,10	0,15	7,95	98,1

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Kahmhefe auf der Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind breit oval, z. T. länglich gestaltet. Das Plasma ist gut ernährt, der Glykogengehalt in den meisten Zellen ein starker, in manchen Zellen ist kein Glykogen enthalten.

Kahmhefe auf der Äpfelsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet, das Plasma ist mittelmäßig gut ernährt, der Glykogengehalt ist in manchen Zellen sehr stark.

Kahmhefe auf der Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet, das Plasma gut ernährt, der Glykogengehalt z. T. ein starker.

Kahmhefe auf der Essigsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet und enthalten kleine Fettkugeln. Das Plasma ist weniger gut ernährt als bei der Kahmhefe Nr. 3. Der Glykogengehalt ist ein starker.

Kahmhefe Nr. 16. Kahm aus 1898er Gaualgesheimer Most.

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Zitronensäure	—	—	—	—	—	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_8$ Decke	$^1/_4$ Decke	über $^1/_2$ Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	$^1/_2$ Decke	über $^3/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Essigsäure	—	$^1/_2$ Decke	desgl.	desgl.	volle gerunzelte Decke	schwach gerunzelte Decke	gerunzelte Decke
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	—

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehalts
Bernsteinsäure . .	7,68	1,18	6,50	84,6
Äpfelsäure	8,13	6,71	1,42	17,4
Milchsäure	7,63	0,90	6,73	88,2
Essigsäure	8,10	0,12	7,98	98,5

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Kahmhefe auf Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval und länglich gestaltet, das Plasma ist gut ernährt, der Glykogengehalt ist vielfach ein sehr starker.

Kahmhefe auf Äpfelsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet, das Plasma gut ernährt, z. T. vakuolenhaltig. Der Glykogengehalt ist ein mittlerer bis starker.

Kahmhefe auf Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet, im Präparat sind viele kleine Zellen vorhanden. Das Plasma ist gut ernährt, der Plasmagehalt ein mittlerer bis starker.

Kahmhefe auf Essigsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval bis länglich oval gestaltet. Das Plasma ist z. T. mit Vakuolen versehen. Der Glykogengehalt ist ein mittlerer.

Kahmhefe Nr. 21a. Kahm aus schlesischem Birntischwein.

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	1/32 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke
Zitronensäure	—	—	—	—	—	—	sehr wenig gewachsen
Äpfelsäure	1/8 Decke	über 1/8 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	nahezu 1/2 Decke	über 1/2 Decke
Milchsäure	nicht ganz 3/4 Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Essigsäure	nahezu volle dünne Decke	volle gefaltete Decke	desgl.	desgl.	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	—

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehalts
Bernsteinsäure . .	7,68	6,50	1,18	15,3
Äpfelsäure	8,13	7,38	0,75	9,2
Milchsäure	7,63	0,67	6,96	91,2
Essigsäure	8,10	0,12	7,98	98,5

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Kahmhefe auf Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet. Das Plasma ist sehr gut ernährt, der Glykogengehalt ist ein starker.

Kahmhefe auf Äpfelsäure-Nährlösung: es sind im Präparat ovale bis längliche Zellen vorhanden. Das Plasma ist sehr gut ernährt, der Glykogengehalt ein starker.

Kahmhefe auf Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval, auch länglich oval. Das Plasma gut ernährt, der Glykogengehalt ein mittelstarker.

Kahmhefe auf Essigsäure-Nährlösung: die ovalen Zellen enthalten im Innern Vakuolen. Das Plasma ist gut ernährt, der Glykogengehalt ein mittlerer.

Kahmhefe Nr. 21b. Kahm aus schlesischem Birntischwein.

Säure	am 24. Jan. 1901	am 25. Jan. 1901	am 26. Jan. 1901	am 27. Jan. 1901	am 31. Jan. 1901	am 4. Febr. 1901	am 7. Febr. 1901
Bernsteinsäure	1/32 Decke	über 1/32 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke
Zitronensäure	—	—	—	—	—	etwas gewachsen	1/8 Decke
Äpfelsäure	1/8 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	über 1/2 Decke	über 1/2 Decke	über 1/2 Decke
Milchsäure	etwas gewachsen	1/32 Decke	1/32 Decke	über 1/32 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	über 1/4 Decke
Essigsäure	—	—	—	—	—	—	—
Weinsäure	—	—	—	—	—	—	—

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten ergab am 7. Februar 1901 folgendes Resultat:

Säure	Ursprünglicher Säuregehalt der Nährlösung ‰	Säuregehalt der Nährlösung am 7. Februar 1901 ‰	Säureverlust ‰	Säureverlust in % des ursprünglichen Säuregehalts
Bernsteinsäure . .	7,68	5,61	2,07	26,9
Zitronensäure . . .	10,51	10,09	0,42	3,9
Äpfelsäure	8,13	7,38	0,75	9,2
Milchsäure	7,63	7,00	0,63	8,2

Die mikroskopische Untersuchung ergab am 7. Februar 1901 folgendes:

Kahmhefe auf Bernsteinsäure-Nährlösung: die Zellen sind rund oder oval gestaltet, das Plasma gut ernährt und der Glykogengehalt in den meisten Zellen ein sehr starker.

Kahmhefe auf Äpfelsäure-Nährlösung: die Zellen sind meist oval gestaltet, das Plasma gut ernährt und der Glykogengehalt ein sehr starker.

Kahmhefe auf Milchsäure-Nährlösung: die Zellen sind oval gestaltet, z. T. mit großen Fettkugeln versehen, z. T. abgestorben. Das Plasma ist in den lebenden Zellen gut ernährt, der Glykogengehalt ein mittlerer bis starker.

Vergleicht man die Ergebnisse des Versuches X mit denjenigen der Versuche I und II, so erkennt man, daß die Kahmheferassen einige Säuren gleich gut verwerten, ob nun als Stickstoffquelle phosphorsaures oder salpetersaures Ammonium in den Nährlösungen vorhanden ist. (Vgl. Kahmhefe 1: Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Milchsäure; Kahmhefe 3: Äpfelsäure, Milchsäure, Essigsäure; Kahmhefe 4: Bernsteinsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure, Milchsäure; Kahmhefe 15: Milchsäure; Kahmhefe 16: Bernsteinsäure, Milchsäure, Essigsäure; Kahmhefe 21a: Milchsäure, Äpfelsäure).

In einzelnen Fällen sind die Kahmhefen auf der salpetersauren Ammonium-Nährlösung besser gewachsen als auf der phosphorsauren, z. B. Kahmhefe 3: Bernsteinsäure; Kahmhefe 10: Weinsäure; Kahmhefe 15: Bernsteinsäure, Äpfelsäure; Kahmhefe 21b: Äpfelsäure.

In der Mehrzahl der Fälle aber sind die Kulturen auf der salpetersauren Ammonium-Nährlösung schlechter gewachsen als auf der phosphorsauren, so daß man behaupten kann, daß das salpetersaure Ammonium bei Gegenwart gewisser organischer Säuren für bestimmte Kahmhefen eine schlechtere Stickstoffquelle als das phosphorsaure Ammonium ist. So wachsen z. B. die Kahmhefen 8, 10, 21a und 21b bedeutend schlechter auf der salpetersauren als auf der phosphorsauren Ammonium-Nährlösung. So bildet z. B. die Kahmhefe 21a auf der Bernsteinsäure, Zitronensäure und Äpfelsäure in den phosphorsauren Ammonium-Nährlösungen volle Decken, während dieselbe Rasse in der salpetersauren Nährlösung auf Bernsteinsäure nur $^1/_4$ Decke, auf Äpfelsäure nur $^1/_2$ Decke gebildet hat, auf der zitronensäurehaltigen Nährlösung überhaupt nur wenig gewachsen ist. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch Kahmhefe Nr. 10.

Auffallend ist bei dem Versuch X, daß einige Kahmheferassen auf den Essigsäure- und Weinsäure-Nährlösungen kein oder nur ein sehr geringes Wachstum zeigen. Hierbei sind zwei Fälle zu unterscheiden:

entweder wachsen die betreffenden Kahmhefen auf den essigsäure- und weinsäurehaltigen Nährlösungen nicht oder nur wenig, sobald die Nährlösungen salpetersaures Ammonium enthalten, während dieselben Rassen auf den entsprechenden phosphorsauren ammoniumhaltigen Nährlösungen ein üppiges Wachstum zeigen, so z. B. Kahmhefe 1: Essigsäure; Kahmhefe 4: Essigsäure, Weinsäure; Kahmhefe 8: Weinsäure; Kahmhefe 21b: Weinsäure. In diesem Falle ist anzunehmen, daß den Kahmhefen das phosphorsaure Ammonium bei Gegenwart von Essigsäure oder Weinsäure besser zusagt als das salpetersaure Ammonium. Immerhin ist auch die Möglichkeit gegeben, daß vielleicht der etwas höhere Essigsäuregehalt im Versuch X hemmend auf die Entwicklung der Kahmhefen einwirkt, welche Möglichkeit durch einen neuen Versuch XI untersucht werden mußte. Im zweiten Falle wachsen die Kahmhefen auf den essig- und weinsäurehaltigen Nährlösungen gleich schlecht, falls phosphorsaures oder salpetersaures Ammonium den Kahmhefen als Stickstoffquelle gegeben wurde. Hier wurde der Versuch XI herangezogen, um zu untersuchen. ob etwa der hohe Essigsäure- oder Weinsäuregehalt der Nährlösungen die Ursache des geringen Wachstums der Kahmhefen sei.

Versuch XI. Am 1. Dezember 1901 wurden die Kahmhefen 1, 3, 4, 15, 16 und 21a in je 100 ccm der Nährlösung B, welche salpetersaures Ammonium als Stickstoffquelle und Essigsäure bezw. Weinsäure als alleinige Quelle organischer Substanz enthielt, geimpft. Die Kulturen waren 6 Tage alt. Der Essigsäuregehalt der Nährlösung betrug nur 4,14 ‰, der Weinsäuregehalt nur 4,12 ‰. Die Beobachtungen ergaben folgendes Resultat:

a) auf Essigsäurenährlösung:

Kahm-Nr.	3. Dezbr. 1901 mittags	3. Dezbr. 1901 abends 11 Uhr	4. Dezbr. 1901 abends 6 Uhr	8. Dezbr. 1901 nachm. $^1/_2$4 Uhr	17. Dezbr. 1901
1	$^1/_{32}$ Decke	über $^1/_{32}$ Decke	$^1/_{16}$ Decke	nahezu volle Decke	sich faltende volle Decke
3	volle glatte Decke	volle sich faltende Decke	gefaltete Decke	leicht gerunzelte Decke	leicht gerunzelte Decke
4	kaum gewachsen	kaum gewachsen	kaum gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	sich eben faltende Decke
15	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	gefaltete Decke	leicht gerunzelte Decke	leicht gerunzelte Decke
16	desgl.	volle Decke	„ „	gefaltete Decke	desgl.
21a	volle Decke	gefaltete Decke	„ „	dicht gerunzelte Decke	desgl.

b) auf Weinsäurenährlösung:

Kahm-Nr.	3. Dezbr. 1901 mittags	3. Dezbr. 1901 abends 11 Uhr	4. Dezbr. 1901 abends 6 Uhr	8. Dezbr. 1901 nachm. $^1/_2$ 4 Uhr	17. Dezbr. 1901
1	—	—	—	—	—
3	kaum gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
4	—	—	—	—	—
15	kaum gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
16	desgl.	kaum gewachsen	kaum gewachsen	kaum gewachsen	kaum gewachsen
21a	desgl.	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen

Durch diese Untersuchung ist der Beweis erbracht, daß tatsächlich ein höherer Essigsäuregehalt hemmend auf die Entwicklung der Kahmhefen einwirkt. Denn setzt man den Essigsäuregehalt von 8,10 auf 4,14 ‰ herab, so bilden die Kahmhefen Nr. 1 und 4 volle Decken, während sie auf der konzentrierteren Essigsäurelösung nicht gewachsen waren. Des weiteren geht hervor, daß die beiden Kahmhefen auch bei Gegenwart von Essigsäure das salpetersaure Ammonium sehr wohl als Stickstoffquelle benutzen können. Die Weinsäure ist aber offenbar ein Nährstoff für die Kahmhefen, der sie nur schlecht mit kohlenstoffhaltiger Substanz versorgen kann. Es war weiter die Frage zu prüfen, ob die Weinsäure durch ihre Gegenwart in künstlichen Nährlösungen auch einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum und die Tätigkeit der Kahmhefen ausübt, ob sie also nicht nur von den Kahmhefen schlecht verarbeitet werden kann, sondern auch auf die Lebensprozesse der Kahmhefen ungünstig einwirkt, wenn ihnen organische Säuren geboten werden, von denen nach den bisherigen Untersuchungen feststeht, daß sie als kohlenstoffhaltige Quelle sehr gern von den Kahmhefen assimiliert werden. Diese Gedanken führten zu Versuch XII.

Versuch XII mit Essigsäure und Weinsäure-Lösungen. Am 1. Dezember 1901 wurden in je 100 ccm der Nährlösung B, welche als Stickstoffquelle salpetersaures Ammonium enthielt, in einem Falle als Quelle organischer Substanz 4,12 ‰ Weinsäure gegeben. In einem anderen Falle 4,14 ‰ Essigsäure + 4,12 ‰ Weinsäure. Die steril gemachten Flüssigkeiten, welche sich in mit Wattestopfen verschlossenen Kölbchen befanden, wurden mit Kahm 3, 15, 16 und 21a geimpft. Zur

Kontrolle wurde dieselbe Nährlösung B, welche aber als Quelle organischer Substanz nur 4,14‰ Essigsäure enthielt, die nachgewiesenermaßen in der angeführten Konzentration von den betreffenden Kahmhefen sehr gut assimiliert wurde, mit den gleichen 6 Tage alten Kahmkulturen geimpft. Die Beobachtungen zeigten die auf S. 166 gemachten Angaben.

Die chemische Untersuchung der einzelnen Nährflüssigkeiten, welche am 17. Dezember 1901 vorgenommen wurde, hatte folgende Resultate:

Kahmheferasse	Gesamtsäuregehalt der Kontrollen			Gesamtsäuregehalt der Nährflüssigkeit am 17. Dezember 1901		
	Essigsäure ‰	Weinsäure ‰	Essigsäure + Weinsäure auf Weinsäure berechnet ‰	Essigsäure ‰	Weinsäure	Essigsäure + Weinsäure auf Weinsäure berechnet ‰
3	4,14	4,12	9,3	alkalisch	4,12	4,5
15	4,14	4,12	9,3	desgl.	4,12	4,8
16	4,14	4,12	9,3	desgl.	4,12	4,6
21a	4,14	4,12	9,3	desgl.	4,12	4,5

Man erkennt aus diesen Zahlen, daß die Weinsäure, wie in den früheren Versuchen, von den Kahmpilzen nicht oder äußerst wenig angegriffen wurde, und zwar weder, wenn sie als alleinige Quelle organischer Substanz in der Nährflüssigkeit vorhanden war, noch in Verbindung mit der Essigsäure. Die Essigsäure wurde, wenn sie als alleinige kohlenstoffhaltige Substanz sich in der Nährflüssigkeit befand, von den Kahmhefen glatt weg zerstört, so daß die Nährflüssigkeit schließlich auf Lackmus etwas alkalisch reagierte. Wenn Essigsäure + Weinsäure zusammen in der Nährflüssigkeit waren, so wurde nur die Essigsäure von den Kahmhefen zerstört, nicht aber die Weinsäure. Wie aus der Wachstumstabelle hervorgeht, übt die Weinsäure einen wachstumshemmenden Einfluß aus, was nicht nur an dem geringen Deckenwachstum, sondern auch daran festzustellen ist, daß bis zum 17. Dezember in denjenigen Fällen, in denen die Nährflüssigkeiten Essigsäure + Weinsäure enthielten, die Essigsäure nicht vollständig abgebaut war, denn der Gesamtsäuregehalt der Nährflüssigkeiten mit Essigsäure + Weinsäure war, nachdem die Kahmhefen auf der Nährflüssigkeit vegetiert hatten, am 17. Dezember 1901 höher als der Gesamtsäuregehalt der Nährflüssigkeit, welche Weinsäure allein enthielt (4,5, 4,8, 4,6, 4,5‰ gegenüber 4,12‰ Essigsäure). Es wurde außerdem durch die Analyse direkt

Kahm	3. Dezember 1901 mittags $^1/_2$1 Uhr			3. Dezember 1901 abends 11 Uhr			4. Dezember 1901			8. Dezember 1901			17. Dezember 1901		
	Essigsäure	Weinsäure	Essigsäure + Weinsäure	Essigsäure	Weinsäure	Essigsäure + Weinsäure	Essigsäure	Weinsäure	Essigsäure + Weinsäure	Essigsäure	Weinsäure	Essigsäure + Weinsäure	Essigsäure	Weinsäure	Essigsäure + Weinsäure
3	volle Decke	kaum ge-wachs.	$^1/_2$ Decke	sich fal-tende Decke	kaum ge-wachs.	nahezu volle Decke	ge-faltete Decke	kaum ge-wachs.	sich eb. fal-tende Decke	leicht gerun-zelte Decke	kaum ge-wachs.	leicht gerunzelte Decke, aber weniger als auf Essigsäure allein	leicht gerun-zelte Decke	kaum ge-wachs.	glatte Decke weniger als auf Essigsäure
15	nahezu volle Decke	desgl.	etwas ge-wachs.	volle glatte Decke	desgl.	$^1/_{32}$ Decke	desgl.	desgl.	$^1/_2$ Decke	desgl.	desgl.	gefaltete Decke, weniger als auf Essigsäure	desgl.	desgl.	gefaltete Decke weniger als auf Essigsäure
16	desgl.	desgl.	$^1/_4$ Decke	volle Decke	desgl.	über $^3/_4$ Decke	desgl.	desgl.	glatte Decke	ge-faltete Decke	desgl.	volle sich eben faltende Decke, weniger als auf Essigsäure	desgl.	desgl.	glatte Decke, weniger als auf Essigsäure
21a	volle Decke	desgl.	sehr wenig ge-wachs.	gefal-tete Decke	desgl.	wenig ge-wachs.	desgl.	desgl.	$^1/_8$ Decke	leicht gerun-zelte Decke	desgl.	gefaltete Decke, weniger als auf Essigsäure	desgl.	desgl.	sich eben faltende Decke, weniger als auf Essig-säure

festgestellt, daß z. B. Kahmhefe Nr. 15 in der Nährflüssigkeit mit Essigsäure und Weinsäure am 17. Dezember noch 0,36 ‰ flüchtige Säuren, Kahmhefe Nr. 16 0,036 ‰, Kahmhefe Nr. 21 0,06 ‰ flüchtige Säuren enthielt, während der ursprüngliche Essigsäuregehalt 4,14 ‰ gewesen war. Dabei ist nicht ausgeschlossen, daß, falls die Vegetation der Kahmhefen länger gedauert hätte, die Essigsäure in der Nährlösung mit Essigsäure und Weinsäure zusammen vollständig assimiliert und daß dann der ursprüngliche Weinsäuregehalt in der Nährflüssigkeit zurückgeblieben wäre.

Um in dieser komplizierten Frage volle Klarheit zu gewinnen, wurden die Versuche noch wesentlich ausgedehnt, wobei die bisher gefundenen Ergebnisse sofort verwertet wurden. Es war festgestellt worden, daß die Kahmhefen auf manchen künstlichen Nährlösungen, welche organische Säuren enthielten, sehr gut, auf anderen dagegen sehr mangelhaft gewachsen waren. Deshalb wurden 4 weitere Versuche, Versuch XIII mit Weinsäure, Versuch XIV mit Zitronensäure, Versuch XV mit Äpfelsäure, Versuch XVI mit Bernsteinsäure, am 17. Februar 1902 angestellt.

Versuch XIII. Die Nährlösung bestand aus Nährlösung B (Stickstoffquelle: salpetersaures Ammonium), welcher für die Kontrollekulturen je 5 ‰ Bernsteinsäure, Milchsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Weinsäure als alleinige Quelle organischer Substanz hinzugefügt war. Für die Versuchskulturen wurden in die Nährflüssigkeit jedesmal zwei verschiedene organische Säuren gegeben, von denen feststand, daß auf der einen Säure die Kahmhefen schlecht, auf der anderen organischen Säure dagegen sehr gut wachsen. Es konnte dann die Frage beantwortet werden, ob eine Gesetzmäßigkeit in der hindernden Wirkung gewisser organischer Säuren auf die Vermehrungsgeschwindigkeit der Kahmhefen existiert. Nach den früheren Versuchen ergab sich unter Berücksichtigung des oben Gesagten folgende Versuchs-Anordnung:

Versuch XIII. Versuch mit Weinsäure. (Säuren mit schlechtem und gutem Kahmhefewachstum.)

Kahmhefe 1 wurde außer in den entsprechenden Kontrollen kultiviert auf Nährflüssigkeiten, welche enthielten: 1. Weinsäure + Bernsteinsäure; 2. Weinsäure + Milchsäure; 3. Weinsäure + Äpfelsäure.

Kahmhefe 3 auf: 1. Weinsäure + Bernsteinsäure; 2. Weinsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 4 auf: 1. Weinsäure + Bernsteinsäure; 2. Weinsäure + Milchsäure; 3. Weinsäure + Äpfelsäure; 4. Weinsäure + Zitronensäure.

Kahmhefe 15 auf: 1. Weinsäure + Bernsteinsäure; 2. Weinsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 16 auf: 1. Weinsäure + Bernsteinsäure; 2. Weinsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 21a auf: 1. Weinsäure + Milchsäure.

Versuch XIV. Versuch mit Zitronensäure.

a) Säuren mit schlechtem und gutem Kahmhefewachstum. Die Kahmhefen wurden außer in den Kontrollflüssigkeiten noch kultiviert auf Nährflüssigkeiten, die enthielten:

Bei Kahmhefe 1: 1. Zitronensäure + Bernsteinsäure; 2. Zitronensäure + Milchsäure; 3. Zitronensäure + Äpfelsäure.

Bei Kahmhefe 3: 1. Zitronensäure + Bernsteinsäure; 2. Zitronensäure + Milchsäure; 3. Zitronensäure + Äpfelsäure.

Bei Kahmhefe 15: 1. Zitronensäure + Bernsteinsäure; 2. Zitronensäure + Milchsäure.

Bei Kahmhefe 16: 1. Zitronensäure + Bernsteinsäure; 2. Zitronensäure + Milchsäure.

Bei Kahmhefe 21a: 1. Zitronensäure + Milchsäure.

b. Säuren mit gutem + gutem Kahmhefewachstum.

Bei Kahmhefe 4: 1. Zitronensäure + Bernsteinsäure; 2. Zitronensäure + Milchsäure; 3. Zitronensäure + Äpfelsäure.

Versuch XV. Versuch mit Äpfelsäure.

a. Säuren mit schlechtem + gutem Kahmhefewachstum.

Kahmhefe 15 wird kultiviert auf: 1. Äpfelsäure + Bernsteinsäure; 2. Äpfelsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 16 auf: 1. Äpfelsäure + Bernsteinsäure; 2. Äpfelsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 21a auf: 1. Äpfelsäure + Milchsäure.

b. Säuren mit gutem + gutem Kahmhefewachstum.

Kahmhefe 1 auf: 1. Äpfelsäure + Bernsteinsäure; 2. Äpfelsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 3 auf: 1. Äpfelsäure + Bernsteinsäure; 2. Äpfelsäure + Milchsäure.

Kahmhefe 4 auf: 1. Äpfelsäure + Bernsteinsäure; 2. Äpfelsäure + Milchsäure.

Versuch XVI. Versuch mit Milchsäure.

a. Säuren mit gutem + gutem Kahmhefewachstum.

Kahmhefe 1 auf: 1. Milchsäure + Bernsteinsäure.

Kahmhefe 3 auf: 1. Milchsäure + Bernsteinsäure.

Kahmhefe 4 auf: 1. Milchsäure + Bernsteinsäure.
Kahmhefe 15 auf: 1. Milchsäure + Bernsteinsäure.
Kahmhefe 16 auf: 1. Milchsäure + Bernsteinsäure.

b. Säuren mit gutem + weniger gutem Kahmhefewachstum.

Kahmhefe 21a auf: 1. Milchsäure + Bernsteinsäure.

Die Impfung der Kulturflüssigkeiten (je 100 ccm) in den Versuchen XIII bis XVI geschah am 17. Februar 1902 mit 3 Tage alten Kulturen der Kahmheferassen Nr. 1, 3, 4, 15, 16 und 21a.

Die Kulturkölbchen waren mit Wattestopfen verschlossen und standen im Laboratorium bei Zimmertemperatur. Die Beobachtungen über das Wachstum der Kahmhefen auf den einzelnen Kulturflüssigkeiten ergaben folgende Resultate:

Kahmhefe Nr. 1.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Versuch XIII.					
Weinsäure	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Weinsäure + Äpfelsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^5/_6$ Decke
Äpfelsäure	$^1/_3$ Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Weinsäure + Bernsteinsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{16}$ Decke	nahezu volle Decke
Bernsteinsäure	$^1/_8$ Decke	$^3/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Weinsäure + Milchsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{64}$ Decke	$^1/_{32}$ Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	desgl.	desgl.	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_5$ Decke	desgl.
Versuch XIV.					
Zitronensäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Zitronens. + Bernsteinsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{64}$ Decke	$^1/_{16}$ Decke	nahezu volle Decke
Bernsteinsäure	$^1/_8$ Decke	$^3/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Zitronensäure + Äpfelsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^3/_4$ Decke	$^5/_6$ Decke
Äpfelsäure	$^1/_3$ Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Zitronensäure + Milchsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	$^1/_{64}$ Decke	$^1/_{32}$ Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_5$ Decke	desgl.

Versuch XV.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Äpfelsäure	$^1/_3$ Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure + Bernsteinsäure	$^1/_{16}$ Decke	$^1/_8$ Decke	$^1/_3$ Decke	desgl.	desgl.
Bernsteinsäure	$^1/_8$ Decke	$^3/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Äpfelsäure + Milchsäure	$^1/_3$ Decke	$^1/_2$ Decke	nahezu volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Milchsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_5$ Decke	volle glatte Decke

Versuch XVI.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Bernsteinsäure	$^1/_8$ Decke	$^3/_4$ Decke	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Bernsteinsäure + Milchsäure	desgl.	$^3/_4$ Decke	nahezu volle Decke	desgl.	desgl.
Milchsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_5$ Decke	volle glatte Decke

Kahmhefe Nr. 3.

Versuch XIII.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Weinsäure	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	sehr wenig gewachsen
Weinsäure + Bernsteinsäure	$^1/_{32}$ Decke	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Bernsteinsäure	$^5/_6$ Decke	fast volle Decke	fast volle Decke	volle geaderte Decke	volle glatte Decke

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Weinsäure + Milchsäure	1/8 Decke	3/4 Decke	nahezu volle Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Milchsäure	5/6 Decke	volle Decke	volle geaderte Decke	desgl.	desgl.

Versuch XIV.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Zitronensäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Zitronens. + Bernsteinsäure	1/32 Decke	1/32 Decke	1/16 Decke	1/2 Decke	5/6 Decke
Bernsteinsäure	5/6 Decke	fast volle Decke	fast volle Decke	volle geaderte Decke	volle glatte Decke
Zitronensäure + Milchsäure	1/4 Decke	3/4 Decke	nahezu volle Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Milchsäure	5/6 Decke	volle Decke	volle geaderte Decke	desgl.	desgl.
Zitronensäure + Äpfelsäure	1/16 Decke	1/8 Decke	1/4 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure	1/8 Decke	1/4 Decke	3/4 Decke	desgl.	desgl.

Versuch XV.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Äpfelsäure	1/8 Decke	1/4 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure + Bernsteinsäure	über 3/4 Decke	über 3/4 Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Bernsteinsäure	5/6 Decke	fast volle Decke	fast volle Decke	desgl.	volle glatte Decke
Äpfelsäure + Milchsäure	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle gerunzelte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Milchsäure	5/6 Decke	volle Decke	volle geaderte Decke	desgl.	desgl.

Versuch XVI.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Bernsteinsäure	5/6 Decke	fast volle Decke	fast volle Decke	volle geaderte Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure + Milchsäure	volle glatte Decke	stark geaderte Decke	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke	volle geaderte Decke
Milchsäure	5/6 Decke	volle Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke	desgl.

Kahmhefe Nr. 4.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Versuch XIII.					
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Weinsäure + Milchsäure	1/16 Decke	1/8 Decke	1/3 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	1/6 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	desgl.	volle geaderte Decke
Weinsäure + Zitronensäure	wenig gewachsen	1/64 Decke	1/16 Decke	1/2 Decke	volle glatte Decke
Zitronensäure	1/32 Decke	1/8 Decke	nahezu 1/2 Decke	volle glatte Decke	desgl.
Weinsäure + Äpfelsäure	wenig gewachsen	weniger als 1/16 Decke	1/8 Decke	1/5 Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure	1/32 Decke	1/16 Decke	nahezu 1/4 Decke	nahezu volle glatte Decke	desgl.
Weinsäure + Bernsteinsäure	1/8 Decke	1/4 Decke	über 1/2 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure	1/3 Decke	3/4 Decke	nahezu volle glatte Decke	volle z. T. geaderte Decke	desgl.
Versuch XIV.					
Zitronensäure	1/32 Decke	1/8 Decke	nahezu 1/2 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Zitronensäure + Äpfelsäure	1/32 Decke	1/5 Decke	2/3 Decke	nahezu volle glatte Decke	desgl.
Äpfelsäure	1/32 Decke	1/16 Decke	nahezu 1/4 Decke	desgl.	desgl.
Zitronensäure + Milchsäure	1/8 Decke	1/5 Decke	1/3 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	1/6 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	desgl.	volle geaderte Decke
Zitronensäure + Bernsteins.	1/5 Decke	1/2 Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure	1/3 Decke	3/4 Decke	desgl.	volle z. T. geaderte Decke	desgl.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Versuch XV.					
Äpfelsäure	1/32 Decke	1/16 Decke	nahezu 1/4 Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure + Bernsteinsäure	1/5 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	desgl.	desgl.
Bernsteinsäure	1/3 Decke	3/4 Decke	nahezu volle Decke	volle z. T. geaderte Decke	desgl.
Äpfelsäure + Milchsäure	1/6 Decke	1/5 Decke	1/2 Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	1/6 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	desgl.	volle geaderte Decke
Versuch XVI.					
Bernsteinsäure	1/3 Decke	3/4 Decke	nahezu volle Decke	volle z. T. geaderte Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure + Milchsäure	1/2 Decke	nahezu volle Decke	desgl.	volle glatte Decke	desgl.
Milchsäure	1/6 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	desgl.	volle geaderte Decke

Kahmhefe Nr. 15.

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Versuch XIII.					
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Weinsäure + Milchsäure	1/3 Decke	3/4 Decke	nahezu volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	desgl.	volle geaderte Decke
Weinsäure + Bernsteinsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Bernsteinsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	nahezu 1/2 Decke	volle glatte Decke
Versuch XIV.					
Zitronensäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Zitronensäure + Milchsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Zitronensäure + Bernsteins.	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Bernsteinsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	nahezu 1/2 Decke	volle glatte Decke

Versuch XV.

Äpfelsäure	1/16 Decke	1/8 Decke	1/4 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure + Milchsäure	volle feine Decke	volle dünne Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	desgl.
Milchsäure	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	desgl.	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Äpfelsäure + Bernsteinsäure	3/4 Decke	3/4 Decke	3/4 Decke	3/4 Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	1/2 Decke	desgl.

Versuch XVI.

Bernsteinsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	nahezu 1/2 Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure + Milchsäure	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Milchsäure	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

Kahmhefe Nr. 16.

Versuch XIII.

Weinsäure	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Weinsäure + Milchsäure	1/2 Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	nahezu volle Decke	desgl.	nahezu volle glatte Decke	nahezu volle glatte Decke	desgl.
Weinsäure + Bernsteinsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Bernsteinsäure	1/32 Decke	1/32 Decke	1/32 Decke	1/16 Decke	volle geaderte Decke

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Versuch XIV.					
Zitronensäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Zitronens. + Bernsteinsäure	1/32 Decke	1/32 Decke	1/32 Decke	1/16 Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure	1/32 Decke	1/32 Decke	1/32 Decke	1/16 Decke	volle geaderte Decke
Zitronensäure + Milchsäure	1/8 Decke	1/2 Decke	über 1/2 Decke	nahezu 3/4 Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	desgl.
Versuch XV.					
Äpfelsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	über 1/4 Decke	1/2 Decke	volle glatte Decke
Äpfelsäure + Milchsäure	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	desgl.
Milchsäure	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	desgl.
Äpfelsäure + Bernsteinsäure	3/4 Decke	5/6 Decke	5/6 Decke	5/6 Decke	volle glatte Decke
Bernsteinsäure	1/32 Decke	1/32 Decke	1/32 Decke	1/16 Decke	volle geaderte Decke
Versuch XVI.					
Bernsteinsäure	1/32 Decke	1/32 Decke	1/32 Decke	1/16 Decke	volle geaderte Decke
Bernsteinsäure + Milchsäure	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	desgl.
Milchsäure	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	nahezu volle Decke	volle glatte Decke
Kahmhefe Nr. 21a.					
Versuch XIII.					
Weinsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Weinsäure + Milchsäure	1/2 Decke	nahezu volle Decke	volle sich faltende Decke	volle sich faltende Decke	volle wenig geaderte Decke
Milchsäure	5/6 Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke

Säure in der Nährflüssigkeit	am 20. Februar 1902	am 21. Februar 1902	am 22. Februar 1902	am 24. Februar 1902	am 19. März 1902
Versuch XIV.					
Zitronensäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen	1/16 Decke	wenig gewachsen
Zitronensäure + Milchsäure	3/4 Decke	1/2 Decke	1/2 Decke	nahezu 3/4 Decke	volle glatte Decke
Milchsäure	5/6 Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke	volle geaderte Decke
Versuch XV.					
Äpfelsäure	1/16 Decke	1/16 Decke	1/16 Decke	1/4 Decke	volle geaderte Decke
Äpfelsäure + Milchsäure	volle dünne Decke	volle dünne Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	desgl.
Milchsäure	5/6 Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	desgl.	desgl.
Versuch XVI.					
Bernsteinsäure	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	volle geaderte Decke
Bernsteinsäure + Milchsäure	nahezu volle Decke	volle dünne Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	desgl.
Milchsäure	5/6 Decke	volle glatte Decke	volle geaderte Decke	desgl.	desgl.

Chemische Untersuchung der **Kontrolle**-Nährlösungen ohne Kahmvegetation:

Zusammensetzung der Nährlösung in bezug auf die Säuren	Säuregehalte in ‰ auf die betreffenden Säuren berechnet
Weinsäure	4,13
Zitronensäure	5,15
Äpfelsäure	3,55
Bernsteinsäure	2,89
Milchsäure	3,59
Weinsäure + Zitronensäure . . .	9,28
„ + Bernsteinsäure . . .	7,02
„ + Äpfelsäure	7,68
„ + Milchsäure	7,72

Zusammensetzung der Nährlösung in bezug auf die Säuren	Säuregehalte in $^0/_{00}$ auf die betreffenden Säuren berechnet
Zitronensäure + Bernsteinsäure . .	8,04
„ + Äpfelsäure . . .	8,70
„ + Milchsäure . . .	8,74
Äpfelsäure + Milchsäure	7,14
Bernsteinsäure + Äpfelsäure . . .	6,44
„ + Milchsäure . . .	6,48

Chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten, auf denen die Kahmhefen gewachsen sind, am 19. März 1902:

Säuregehalte in $^0/_{00}$.

Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten in bezug auf die Säuren	Kahmhefe 1	Kahmhefe 3	Kahmhefe 4	Kahmhefe 15	Kahmhefe 16	Kahmhefe 21 a
Weinsäure	4,13	4,13	4,13	3,98	3,98	3,98
Zitronensäure	5,15	5,04	schwach alkalisch	4,94	4,94	4,94
Äpfelsäure	neutral	schwach alkalisch	schwach alkalisch	schwach alkalisch	schwach alkalisch	schwach alkalisch
Bernsteinsäure	schwach alkalisch	neutral	schwach alkalisch	neutral	schwach alkalisch	schwach alkalisch
Milchsäure	schwach alkalisch	schwach alkalisch	schwach alkalisch	neutral	schwach alkalisch	schwach alkalisch
Weinsäure + Zitronens.	—	—	3,68	—	—	—
Weins. + Bernsteins.	4,13	4,13	3,30	6,91	6,91	—
Weinsäure + Äpfelsäure	4,13	—	3,45	—	—	—
Weinsäure + Milchsäure	4,13	4,13	3,75	3,90	3,98	3,98
Zitronens. + Bernsteins.	5,15	4,83	neutral	7,77	4,94	—
Zitronens. + Äpfelsäure	5,15	5,04	neutral	—	—	—
Zitronens. + Milchsäure	5,15	4,62	neutral	4,94	4,94	4,94
Äpfelsäure + Milchsäure	neutral	neutral	schwach alkalisch	neutral	neutral	neutral
Bernsteins. + Äpfels.	schwach alkalisch	neutral	schwach alkalisch	neutral	schwach alkalisch	—
Bernsteins. + Milchs.	neutral	0,29	neutral	neutral	schwach alkalisch	neutral

Sehr interessant sind die Ergebnisse der Versuche XIII. u. XIV. Es zeigt sich durch sie wiederum, was durch den Versuch XII bereits gefunden war, daß nämlich die Weinsäure und die Zitronensäure (letztere ausgeschlossen bei Kahmhefe 4) einen hemmenden Einfluß auf die Entwicklung der Kahmhefen ausüben. Als Beispiel mögen die Wachstumsverhältnisse bei Kahmhefe Nr. 1 besprochen werden. Diese Kahmheferasse ist auf Weinsäure-Nährlösung nicht gewachsen, hat dagegen auf der Äpfelsäure-Nährlösung eine volle glatte Decke gebildet. Wenn nun der Nährlösung Weinsäure + Äpfelsäure zusammen gegeben und auf diese Lösung Kahmhefe 1 geimpft wurde, so war das Wachstum ein bedeutend geringeres und erst allmählich bildete sich eine größere Decke auf der Oberfläche dieser Nährflüssigkeit aus. Auf der Äpfelsäure-Nährlösung war innerhalb 5 Tagen eine volle glatte Kahmdecke gebildet, auf der Weinsäure- + Äpfelsäure-Nährlösung dagegen war über ein Monat Zeit notwendig, damit sich auf $^5/_6$ der Oberfläche eine Kahmdecke bildete. Ähnlich liegen die Verhältnisse des Kahmwachstums auf der Bernsteinsäure-Nährlösung und derjenigen, welche Weinsäure + Bernsteinsäure bekommen hatte: Auf der Bernsteinsäure-Nährlösung nach fünf Tagen eine volle glatte Decke auf der Oberfläche der Flüssigkeit, dagegen nur eine nahezu volle Decke auf der Weinsäure- + Bernsteinsäure-Nährlösung erst nach über einen Monat. Bei der Milchsäure-Nährlösung liegen die Verhältnisse insofern etwas anders, als auch auf dieser Säure die Kahmhefe 1 anfänglich etwas langsamer als auf den Äpfel- oder Bernsteinsäure-Nährlösungen gewachsen ist. Trotzdem ist auch hier das Wachstum auf der Milchsäurelösung allein kräftiger als auf der Weinsäure- + Milchsäure-Nährlösung. Wie bei der Weinsäure, tritt die hemmende Wirkung auf die Entwicklung der Kahmhefen auch bei der Zitronensäure deutlich hervor, wie ein Blick auf die Tabelle lehrt.

Diese Verhältnisse werden auch durch die chemische Analyse der Nährflüssigkeiten beleuchtet. Da, wo die zur Untersuchung herangezogenen Kahmhefen auf Äpfelsäure-, Bernsteinsäure- oder Milchsäure-Nährlösung wachsen, werden die genannten Säuren in der Zeit vom 17. Februar bis 19. März 1902 vollständig durch die Lebensprozesse der Kahmhefen zerstört, ja z. T. geben die Nährflüssigkeiten auf Lackmus eine schwach alkalische Reaktion. Das letztere findet auch bei der Kahmhefe Nr. 4 statt, welche auf einer Zitronensäure-Nährlösung gewachsen ist. Sonst ist auch auf der Zitronensäure-Nährlösung das Wachstum aller zum Versuch verwendeten Kahmheferassen ein sehr geringes; denn die ursprünglichen Zitronensäure-Nährlösungen besaßen

5,15 ‰ Zitronensäure und nach der Vegetationszeit finden wir, daß diese Säure, wie bei Kahmhefe Nr. 1, überhaupt keine Abnahme erfahren hat, oder nur eine sehr geringe. Denn bei Kahmhefe 3 werden immer noch 5,04 ‰, bei den Kahmhefen 15, 16, 21a aber noch 4,94 ‰ Gesamtsäure gefunden. Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten gibt des weiteren an, daß in allen Weinsäure-Nährlösungen die Weinsäureabnahme entweder = 0 oder nur eine äußerst geringe gewesen ist, denn der ursprüngliche Weinsäuregehalt dieser Nährlösung betrug 4,13 ‰, er ist bei den Kahmhefen 1, 3 und 4 nach der Vegetationszeit derselbe geblieben und nur bei den Kahmhefen 15, 16 und 21a ist eine sehr geringe Abnahme der Gesamtsäure bemerkbar, denn der Gesamtgehalt dieser Nährlösung wird am 19. März 1902 noch mit 3,98 ‰ gefunden. Wir haben also in der Äpfelsäure-, Milchsäure- und Bernsteinsäure-Nährlösung ein kräftiges Wachstum der Kahmhefen und ein vollständiges Verschwinden der betreffenden Säuren festzustellen, während auf den Zitronensäure- (mit Ausnahme von Kahmhefe 4) und auf den Weinsäure-Nährlösungen das Wachstum der Kahmhefen nur ein äußerst geringes ist und dementsprechend auch die Säuregehalte der Nährlösungen nach der Vegetationszeit in derselben oder in fast derselben Höhe gefunden werden.

Kombiniert man nun in den Nährlösungen die Säuren so, wie es in den Versuchen XIV und XV geschehen ist, d. h. gibt man in die Nährlösungen organische Säuren, auf denen die Kahmhefen auf der einen Seite gut wachsen, und zu gleicher Zeit noch eine Säure, von der bekannt ist, daß sie untauglich ist als Kohlenstoffquelle für die Kahmhefen, so scheint sich als äußerst interessantes Resultat zu ergeben, daß in diesen Fällen wohl die Äpfelsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure ebenfalls vollständig von den Kahmhefen zerstört, daß aber die Weinsäure und Zitronensäure wiederum nicht oder nur sehr wenig von den Kahmhefen angegriffen werden. Denn es ist doch auffallend, daß, nachdem die Kahmhefen auf den betreffenden Nährlösungen gewachsen sind, der ursprüngliche Gesamtsäuregehalt der Nährflüssigkeit nur um den Säuregehalt der Äpfelsäure, Milchsäure oder Bernsteinsäure vermindert und der ursprüngliche Säuregehalt der Weinsäure entweder vollständig oder fast vollständig in den Nährlösungen übrig geblieben ist. Als Beispiel gilt in dieser Hinsicht die Kahmhefe 21a. Der ursprüngliche Säuregehalt der Weinsäure- + Milchsäure-Nährlösung betrug 7,72 ‰, der sich aus 4,13 ‰ Weinsäure und 3,59 ‰ Milchsäure zusammensetzte. Am 19. März

1902 zeigen die Nährlösungen, auf denen die Kahmhefen 1 und 3 gewachsen sind, nur noch den Weinsäuregehalt mit 4,13 ‰. Es ist also in diesem Falle wahrscheinlich die Milchsäure verschwunden und die Weinsäure übrig geblieben. Bei den Kahmhefen Nr. 15, 16 und 21a ist offenbar auch die Milchsäure vollständig verschwunden, und da diese Rassen auf der Weinsäure-Nährlösung allein etwas wachsen können, so ist auch der Gesamtsäuregehalt am 19. März 1902 auf 3,90 bezw. 3,98 ‰ zurückgegangen. Es sind also bei der kombinierten Weinsäure- + Milchsäure-Nährlösung dieselben oder fast dieselben Säuregehalte gefunden worden, wie sie sich nach dem Wachstum der Kahmhefen 15, 16 und 21a auf der Weinsäure-Nährlösung allein ergeben haben. In der Nährlösung mit der Kahmhefe 4 finden wir eine etwas größere Abnahme der Gesamtsäure in der Weinsäure + Milchsäure-Nährlösung am 19. März 1902. Diese Erscheinung hat ihren Grund offenbar darin, daß, wie auch schon im ersten Teile der Abhandlung[1]) angeführt worden ist, die Kahmheferasse Nr. 4 alkalisch reagierende Substanzen ausscheidet, die sich dann mit der Weinsäure neutralisiert haben können. Weitere Untersuchungen über die chemischen Veränderungen der Säuren durch die Kahmhefen sind einer späteren Abhandlung vorbehalten; in der vorliegenden sollten besonders die Wachstumsverhältnisse der Kahmhefen auf künstlichen, organische Säuren enthaltenden Nährflüssigkeiten erörtert werden.

Die hemmende Wirkung der Weinsäure wird besonders auch durch die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten deutlich bei den Kahmhefen Nr. 15 u. 16. Während diese Rassen auf der Bernsteinsäure-Nährlösung allein sehr kräftig wachsen und die Säuren vollständig zerstören, bauen sie nur einen kleinen Teil der Gesamtsäure ab, sobald sie auf Weinsäure- + Bernsteinsäure-Nährlösung kultiviert werden. Ihr Säuregehalt beträgt am 19. März immer noch 6,91 ‰, während der ursprüngliche Gesamtsäuregehalt 7,07 ‰ betrug. Genau dieselben Verhältnisse finden wir dann vor, wenn die Zitronensäure mit der Bernsteinsäure, Äpfelsäure oder Milchsäure in den Nährflüssigkeiten kombiniert wird. Da jedoch Kahmhefe 4 auf Zitronensäure sehr gut wachsen kann, so werden von dieser Kahmheferasse nicht nur die Zitronensäure, sondern auch die Bernsteinsäure, Äpfelsäure und Milchsäure vollständig zerstört.

In allen denjenigen Fällen, in denen die Äpfelsäure, Milchsäure und Bernsteinsäure miteinander in den Nährflüssigkeiten

[1]) Meißner, Landw. Jahrbücher, Bd. XXX, S. 525 u. 568.

kombiniert werden, Säuren, auf denen die zum Versuch verwendeten Kahmhefen nachgewiesenermaßen gut wachsen, findet stets eine vollständige Zerstörung der beiden in den Nährflüssigkeiten verbundenen organischen Säuren statt. Eine kleine Ausnahme bildet die Kahmhefe Nr. 3, welche auf der Bernsteinsäure + Milchsäurelösung gewachsen ist. Bei dieser Rasse kommt es bis zum 19. März 1902 nicht zu einer vollständigen Verarbeitung der Bernsteinsäure und Milchsäure, sondern es bleibt ein Rest von 0,029 ‰ Säure übrig.

Beim Überblicken der Wachstumstabellen fällt noch eine Tatsache auf, daß nämlich bei der Kombination zweier Säuren, auf denen die Kahmhefen auf jeder von beiden gleich gut wachsen, doch ab und zu eine Wachstumsverzögerung der Kahmhefen eintritt. Als Beispiel diene die Kahmhefe 1 im Versuch XV. Wir sehen, daß sowohl auf der Äpfelsäure, als auch auf der Bernsteinsäure-Nährlösung bereits am 22. Februar 1902, d. h. nach 5 Tagen die Oberflächen der Flüssigkeiten vollständig mit einer Kahmdecke überzogen sind. An demselben Tage zeigt aber dieselbe Kahmhefe 1, welche auf der Äpfelsäure- + Bernsteinsäure-Nährlösung gewachsen ist, nur die Bildung von 1/3 Decke. Es findet also durch die Kombination der beiden Säuren eine Hemmung im Wachstum der Kahmhefe 1 statt, während man eigentlich, da die Kahmhefe auf beiden Säuren allein sehr gut wächst, ein kräftigeres Wachstum auf der Äpfelsäure- + Bernsteinsäure-Nährlösung erwarten sollte. Diese Hemmung, wie bei Kahmhefe 1, sehen wir auch bei Kahmhefe 3 u. 4 im Versuch XV. Dagegen trifft die Erwartung der Erhöhung des Kahmhefenwachstums bei der Kombination der Äpfelsäure + Bernsteinsäure ein bei den Kahmhefen 15 und 16 im Versuch XV, denn die Kahmhefe 16 z. B. hat bereits am 21. Februar 1902, nach 4 Tagen, auf der Äpfelsäure- + Bernsteinsäure-Nährlösung 5/6 der Flüssigkeitsoberfläche mit einer Decke überzogen, während auf der Äpfelsäure-Nährlösung allein erst 1/4 Decke, auf der Bernsteinsäure-Nährlösung dagegen erst 1/32 Decke gebildet ist.

Kombinieren wir die Äpfelsäure mit der Milchsäure in den Nährflüssigkeiten, so finden wir ein stärkeres Wachstum der Kahmhefen, wenn sie auf den Nährlösungen mit beiden Säuren geimpft sind, als auf den Nährlösungen mit jeder Säure getrennt, bei den Rassen 3, 15, 16 und 21a im Versuch XV. Dagegen tritt wiederum eine Hemmung des Kahmhefewachstums bei Kahmhefe 1 im Versuch XV ein.

Bei der Kombination endlich der Bernsteinsäure mit der Milchsäure haben wir eine Erhöhung des Kahmhefewachstums bei den

Rassen 3 und 16, eine Hemmung, wenn auch nur eine geringe, bei den Kahmhefen 1, 4 und 21a im Versuch XVI.

Diese genannten Erscheinungen können ihren Grund darin haben, daß bei einer Hemmung des Kahmhefewachstums die höheren Säurekonzentrationen die Lebensprozesse der Kahmhefen ungünstig beeinflussen, während bei einer Erhöhung des Kahmhefewachstums die Lebensprozesse der Kahmhefen trotz der erhöhten Säurekonzentration der Nährflüssigkeiten sich intensiver gestalten. Es würde also etwas ähnliches stattfinden, wie z. B. bei den Weinhefen. Bei ihnen hemmt auf der einen Seite bekanntlich eine Erhöhung des Alkoholgehaltes der Nährflüssigkeiten das Wachstum der Hefen, während bis zu einem gewissen Grade auf der anderen Seite ein höherer Zuckergehalt die Wachstums- und Gärungsvorgänge begünstigt. Ob nun tatsächlich durch die erhöhte Säurekonzentration das Wachstum der Kahmhefen vermindert wird, kann durch die Versuche XIII—XVI nicht ohne weiteres entschieden werden. Deshalb war es notwendig, neben den letztgenannten Versuchen in einem besonderen Versuch XVII die Frage zu erörtern: Wie verhalten sich die Kahmhefen in derselben Nährlösung B, die auch in den Versuchen XIII—XVI verwendet wurde, der aber in dem einen Falle 5 ‰, in dem zweiten Fälle 10 ‰ Säure gegeben werden.

Versuch XVII mit verschiedenen Säurekonzentrationen. Am 28. Juli 1902 wurden je 100 ccm sterilisierter Nährlösung B, der in einem Falle 5, im anderen 10 ‰ Äpfelsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure getrennt gegeben waren, mit den Rassen 1, 3, 4, 15, 16 und 21a geimpft. Die Beobachtungen des Wachstums ergaben folgendes Resultat:

Wachstum der Kahmhefen am 30. Juli 1902.

Kahmhefe-rasse	auf Äpfelsäure		auf Milchsäure		auf Bernsteinsäure	
	5 ‰	10 ‰	5 ‰	10 ‰	5 ‰	10 ‰
1	$^1/_{64}$ Decke	über $^1/_4$ Decke	über $^1/_2$ Decke	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_{16}$ Decke
3	nahezu $^1/_2$ Decke	„ $^3/_4$ „	etwas über $^1/_2$ Decke	etwas über $^1/_2$ Decke	$^1/_4$ „	$^1/_4$ „
4	—	—	$^5/_6$ „	$^1/_2$ „	$^1/_4$ „	$^1/_3$ „
15	—	—	$^1/_2$ „	$^1/_4$ „	—	—
16	—	—	$^1/_2$ „	$^1/_2$ „	—	—
21a	—	—	$^1/_2$ „	$^1/_4$ „	—	—

Wachstum der Kahmhefen am 31. Juli 1902.

Kahm-hefe-rasse	auf Äpfelsäure		auf Milchsäure		auf Bernsteinsäure	
	5 ‰	10 ‰	5 ‰	10 ‰	5 ‰	10 ‰
1	1/32 Decke	1/2 Decke	3/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke	über 1/16 Decke
3	3/4 "	volle Decke	nahezu volle Decke	2/3 "	1/2 "	1/2 Decke
4	—	—	nahezu volle Decke	3/4 "	3/4 "	5/6 "
15	—	—	über 3/4 Decke	1/2 "	—	—
16	—	—	3/4 Decke	3/4 "	—	—
21a	—	—	3/4 "	1/2 "	—	—

Nach diesen Versuchen fördert eine höhere Konzentration der Äpfelsäure das Wachstum der Kahmhefe 1 und 3. Die Milchsäure hemmt im allgemeinen bei höherer Konzentration das Kahmwachstum z. T. beträchtlich, wie bei Kahmhefe 1, 15 und 21a und nur bei Kahmhefe 16 ist es gleich, ob nun diese Kahmheferasse auf einer Nährflüssigkeit kultiviert wird, die 5 oder 10 ‰ Milchsäure enthält. Bei der Bernsteinsäure wird das Wachstum der Kahmhefe 1 bei höherer Konzentration wesentlich gehemmt, bei Kahmhefe 3 ist es gleich und bei Kahmhefe 4 wird es in Nährlösungen mit höherer Säurekonzentration ein stärkeres. Mit anderen Worten, die verschiedenen organischen Säuren (Äpfelsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure) bilden in konzentrierterer Form entweder Substanzen, die als Nährstoffe ein besseres Wachstum der Kahmhefen bedingen als in weniger konzentrierter Form, oder es kann auch dieselbe organische Säure, wie z. B. die Bernsteinsäure, bei den verschiedenen Kahmheferassen bald hemmend, bald fördernd, bald neutral wirken. Daraus ist es zu erklären, daß in den Versuchen XIII—XVI bei der Kombination zweier organischer Säuren in der Nährflüssigkeit B bald eine Hemmung, bald eine Förderung des Kahmhefewachstums sich ergibt.

B. Versuche mit Chlorammonium, weinsaurem Ammonium und Asparagin als Stickstoffquelle.

In einem größeren Versuche XVIII sollte die Frage entschieden werden, ob das Chlorammonium, das weinsaure Ammonium und das Asparagin als Stickstoffquellen für die Kahmhefen dienen können. Schulz hatte bekanntlich die Ansicht ausgesprochen, daß, wie das

salpetersaure Ammonium, auch das weinsaure Ammonium und das Asparagin in Verbindung mit organischen Säuren nicht zur Ernährung der Kahmpilze befähigt seien. Die Unhaltbarkeit dieser Anschauung in bezug auf das salpetersaure Ammonium ist bereits durch den Versuch X nachgewiesen worden. Das Chlorammonium wurde als Stickstoffquelle aus dem Grunde zu den Versuchen mitverwendet, weil in der Praxis dieses Salz häufig bei der Obstweinbereitung zur Förderung der alkoholischen Gärung benutzt wird.

Versuch XVIII mit Chlorammonium. Am 24. Juli 1902 wurden je 100 ccm der Nährlösung B, welche als Stickstoffquelle 5 ‰ Chlorammonium besaß und sterilisiert war, mit den Kahmhefen Nr. 1, 3, 4, 8, 10, 15, 16, 21a und 21b geimpft.

Als kohlenstoffhaltige Substanzen waren je folgende in der Nährlösung vorhanden: Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Zitronensäure, Milchsäure (je 5 ‰), Traubenzucker, Rohrzucker[1]), Glyzerin, Alkohol (je 5 %); bemerkt sei noch, daß die Kahmhefe Nr. 16 erst am 28. Juli 1902 auf die Nährflüssigkeiten geimpft werden konnte. Die Einzelbeobachtungen des Versuches ergaben folgende Resultate:

Kahmhefe Nr. 1.

1. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	Kaum gewachsen
„ Bernsteinsäure . . .	¼ Decke.
„ Zitronensäure	Weniger als ¼ Decke.
„ Äpfelsäure	„ „ „ „
„ Essigsäure	¼ Decke.
„ Milchsäure	„ „
„ Traubenzucker . . .	Schwaches Wachstum.
„ Rohrzucker	„ „
„ Glyzerin	Über ¼ Decke.
„ Alkohol	Kaum gewachsen.

2. Beobachtung am 30. Juli 1902.

Auf Essigsäure	¾ Decke.
„ Glyzerin	„ „

Auf den anderen Nährflüssigkeiten ist viel weniger gewachsen.

3. Beobachtung am 30. November 1902.

Auf Weinsäure	Sehr wenig gewachsen.
„ Äpfelsäure	Volle Decke und dicker Bodensatz.
„ Bernsteinsäure . . .	„ „ „ „ „

[1]) Anm. d. Red. Über die Assimilation von Ammoniumverbindungen durch Kahmhefe vergl. auch A. Kossowicz, Zeitschrift für das landw. Versuchswesen in Österreich, Bd. 9, 1906, S. 688, über die Assimilation von Ammoniumverbindungen durch hautbildende Saccharomyceten, Bd. 6, 1903, S. 731, Tab. I.

Auf Zitronensäure	$^1/_4$ Decke.
„ Essigsäure	Volle Decke, Bodensatz.
„ Milchsäure	„ „ „
„ Traubenzucker	„ „ „
„ Rohrzucker	$^1/_2$ dünne Decke.
„ Glyzerin	Volle Decke, Bodensatz.
„ Alkohol	„ „ „

Die chemische Untersuchung ergab, daß die Kahmhefe 1 vom 24. Juli bis 30. November 1902 die Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure und Milchsäure vollständig verzehrt hatte. Die betreffenden Nährlösungen reagierten neutral.

Kahmhefe Nr. 3.

1. Beobachtung am 27. Juli 1902.

Auf Äpfelsäure	Volle Decke.
„ Milchsäure	$^5/_6$ Decke.

2. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Äpfelsäure	Volle glatte Decke.
„ Bernsteinsäure	Nahezu volle Decke.
„ Zitronensäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Essigsäure	$^5/_6$ „
„ Milchsäure	Volle glatte Decke.
„ Traubenzucker	$^5/_6$ Decke.
„ Rohrzucker	$^1/_2$ „
„ Glyzerin	$^1/_{32}$ „
„ Alkohol	Wenig gewachsen.

3. Beobachtung am 29. Juli 1902.

Auf Weinsäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Äpfelsäure	Volle gefaltete Decke.
„ Bernsteinsäure	„ glatte „
„ Zitronensäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Essigsäure	Volle gefaltete Decke.
„ Milchsäure	„ „ „
„ Traubenzucker	„ glatte „
„ Rohrzucker	Nahezu $^3/_4$ Decke.
„ Glyzerin	$^1/_{16}$ Decke.
„ Alkohol	Wenig gewachsen.

4. Beobachtung am 30. Juli 1902.

Auf Glyzerin $^1/_4$ Decke, sonst wie bei Beobachtung 3.

5. Beobachtung am 30. November 1902.

Volle Decken sind gebildet auf der Nährflüssigkeit mit Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure, Traubenzucker, Glyzerin, Alkohol. Auf Zitronensäure und Weinsäure ist wenig gewachsen, auf Rohrzuckerlösung $^3/_4$ dünne Decke.

Auch hier ergab die chemische Untersuchung, daß die Nährlösungen, welche ursprünglich 5 ‰ Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure und Milchsäure enthielten, am 30. Novbr. 1902 neutral reagierten.

Kahmhefe Nr. 4.

1. Beobachtung am 27. Juli 1902.

Auf Traubenzucker	3/4 Decke.
„ Rohrzucker	3/4 „

2. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	1/2 Decke.
„ Äpfelsäure	1/8 „
„ Bernsteinsäure	Nahezu volle weiße Decke.
„ Zitronensäure	1/8 Decke.
„ Essigsäure	Nicht gewachsen.
„ Milchsäure	3/4 Decke.
„ Traubenzucker	Nahezu volle weiße Decke.
„ Rohrzucker	5/6 Decke.
„ Glyzerin	5/6 „
„ Alkohol	Wenig gewachsen.

3. Beobachtuug am 29. Juli 1902.

Auf Weinsäure	1/2 dünne Decke.
„ Äpfelsäure	1/4 Decke.
„ Bernsteinsäure	Dicke weiße gerunzelte Decke.
„ Zitronensäure	1/4 Decke.
„ Essigsäure	Nicht gewachsen.
„ Milchsäure	5/6 Decke.
„ Traubenzucker	Volle weiße Decke.
„ Rohrzucker	Nahezu volle Decke.
„ Glyzerin	„ „ „
„ Alkohol	1/32 Decke.

4. Beobachtung am 30. Juli 1902.

Auf Äpfelsäure	5/6 Decke.
„ Zitronensäure	3/4 „

Sonst wie bei Beobachtung 3.

5. Beobachtung am 30. November 1902.

Volle Decken sind gebildet auf: Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Essigsäure, Milchsäure, Traubenzucker, Rohrzucker, Glyzerin, Alkohol; auf Weinsäure ist 1/2 dünne Decke gebildet.

Die chemische Untersuchung am 30. November 1902 ergab, daß folgende Säuren von der Kahmhefe 4 vollständig verbraucht sind: Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Essigsäure und Milchsäure.

Kahmhefe Nr. 8.

1. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Äpfelsäure	$^1/_{64}$ „
„ Bernsteinsäure	$^1/_{64}$ „
„ Zitronensäure	Nicht gewachsen.
„ Essigsäure	„ „
„ Milchsäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Traubenzucker	Sehr wenig gewachsen.
„ Rohrzucker	„ „ „
„ Glyzerin	$^1/_{64}$ Decke.
„ Alkohol	Kaum gewachsen.

2. Beobachtung am 30. November 1902.

Auf Weinsäure	Sehr wenig gewachsen.
„ Äpfelsäure	„ „ „
„ Bernsteinsäure	Wenig gewachsen.
„ Zitronensäure	Nicht gewachsen.
„ Essigsäure	„ „
„ Milchsäure	$^3/_4$ Decke.
„ Traubenzucker	Wenig gewachsen.
„ Rohrzucker	Sehr wenig gewachsen.

Kahmhefe Nr. 10.

1. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Äpfelsäure	$^1/_{64}$ „
„ Bernsteinsäure	$^1/_2$ „
„ Zitronensäure	$^1/_{32}$ „
„ Essigsäure	Nicht gewachsen.
„ Milchsäure	Über $^1/_{64}$ Decke.
„ Traubenzucker	Wenig gewachsen.
„ Rohrzucker	„ „
„ Glyzerin	$^1/_{64}$ Decke.
„ Alkohol	Wenig gewachsen.

2. Beobachtung am 30. November 1902.

Auf Weinsäure	Wenig gewachsen.
„ Äpfelsäure	$^1/_8$ Decke.
„ Bernsteinsäure	Wenig gewachsen.
„ Zitronensäure	Ganz dünne halbe Decke.
„ Essigsäure	Wenig gewachsen.
„ Milchsäure	$^5/_6$ dünne Decke.
„ Alkohol	$^3/_4$ „ „
„ Glyzerin	Volle Decke.

Kahmhefe Nr. 15.

1. Beobachtung am 27. Juli 1902.

Auf Bernsteinsäure	Volle Decke.
„ Essigsäure	„ „
„ Milchsäure	5/6 „

2. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	1/4 Decke.
„ Äpfelsäure	1/2 „
„ Bernsteinsäure	Volle glatte Decke.
„ Zitronensäure	1/3 Decke.
„ Essigsäure	Volle gefaltete Decke.
„ Milchsäure	„ glatte „
„ Traubenzucker	5/6 Decke.

3. Beobachtuug am 29. Juli 1902.

Auf Weinsäure	Über 1/4 Decke.
„ Äpfelsäure	„ 3/4 „
„ Bernsteinsäure	Volle glatte Decke.
„ Zitronensäure	1/3 Decke.
„ Essigsäure	Volle gerunzelte Decke.
„ Milchsäure	„ gefaltete „
„ Traubenzucker	Nahezu volle „
„ Rohrzucker	Über 2/3 „
„ Glyzerin	Nahezu 2/3 „
„ Alkohol	„ volle „

4. Beobachtung am 30. November 1902.

Volle Decken sind gebildet auf den Nährflüssigkeiten mit: Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure, Traubenzucker, Rohrzucker, Glyzerin, Alkohol. Auf Zitronensäure ist 3/4 Decke, auf Weinsäure 1/2 dünne Decke gebildet worden.

Bei der chemischen Untersuchung am 30. November 1902 sind von Kahmhefe 15 folgende Säuren vollständig zerstört worden: Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure.

Kahmhefe Nr. 16.

1. Beobachtung am 30. Juli 1902.

Auf Weinsäure	1/4 Decke.
„ Äpfelsäure	3/4 „
„ Bernsteinsäure	3/4 „
„ Zitronensäure	1/2 „
„ Essigsäure	Sehr wenig gewachsen.
„ Milchsäure	5/6 Decke.
„ Traubenzucker	Über 3/4 Decke.
„ Rohrzucker	„ 3/4 „
„ Glyzerin	„ 1/2 „
„ Alkohol	1/4 Decke

2. Beobachtung am 31. Juli 1902.

Auf	Weinsäure	$^1/_4$ Decke.
„	Äpfelsäure	$^5/_6$ „
„	Bernsteinsäure	$^5/_6$ „
„	Zitronensäure	$^3/_4$ „
„	Essigsäure	Sehr wenig gewachsen.
„	Milchsäure	Nahezu volle Decke.
„	Traubenzucker	Volle Decke.
„	Rohrzucker	$^5/_6$ Decke.
„	Glyzerin	$^2/_3$ „
„	Alkohol	$^1/_4$ „

3. Beobachtung am 30. November 1902.

Volle Decken sind gebildet auf den Nährflüssigkeiten mit Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure, Traubenzucker, Glyzerin, Alkohol. Auf Zitronensäure und Weinsäure ist $^3/_4$ ganz dünne Decke entstanden, auf Rohrzuckerlösung $^5/_6$ dünne Decke.

Bei der chemischen Untersuchung reagierten die Nährflüssigkeiten mit Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure am 30. November 1902 neutral.

Kahmhefe Nr. 21a.

1. Beobachtung am 27. Juli 1902.

Auf	Bernsteinsäure	$^1/_2$ Decke.
„	Essigsäure	Volle „
„	Milchsäure	$^3/_4$ „
„	Traubenzucker	$^3/_4$ „

2. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf	Weinsäure	$^1/_{32}$ Decke.
„	Äpfelsäure	$^1/_2$ „
„	Bernsteinsäure	$^1/_2$ „
„	Zitronensäure	$^1/_{64}$ „
„	Essigsäure	Volle gefaltete Decke.
„	Milchsäure	Nahezu volle Decke.
„	Traubenzucker	„ „ „
„	Rohrzucker	$^1/_2$ Decke.
„	Glyzerin	$^1/_2$ „
„	Alkohol	$^1/_2$ „

3. Beobachtuug am 29. Juli 1902.

Auf	Weinsäure	über $^1/_{32}$ Decke.
„	Äpfelsäure	$^2/_3$ Decke.
„	Bernsteinsäure	$^2/_3$ „
„	Zitronensäure	$^1/_{64}$ „
„	Essigsäure	Volle gerunzelte Decke.
„	Milchsäure	Gefaltete Decke.
„	Traubenzucker	Nahezu volle Decke.

Auf Rohrzucker	$^1/_2$ Decke.
„ Glyzerin	Nahezu $^3/_4$ Decke.
„ Alkohol	„ volle Decke.

4. Beobachtung am 30. November 1902.

Volle Decken sind gebildet auf der Nährlösung mit Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure, Traubenzucker, Rohrzucker, Glyzerin, Alkohol; auf Weinsäure ist $^1/_4$ Decke, auf Zitronensäure $^1/_8$ sehr dünne Decke entstanden.

Die chemische Untersuchung am 30. November 1902 hatte ergeben, daß die Kahmhefe 21a folgende Säuren vollständig zerstört hat: Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Milchsäure.

Kahmhefe Nr. 21b.

1. Beobachtung am 28. Juli 1902.

Auf Weinsäure	Wenig gewachsen.
„ Äpfelsäure	$^1/_{64}$ Decke.
„ Bernsteinsäure	$^1/_{32}$ „
„ Zitronensäure	$^1/_{32}$ „
„ Essigsäure	Nicht gewachsen.
„ Milchsäure	$^1/_4$ Decke.
„ Traubenzucker	Wenig gewachsen.
„ Rohrzucker	„ „
„ Glyzerin	$^1/_{32}$ Decke.
„ Alkohol	Kaum gewachsen.

2. Beobachtung am 30. November 1902.

Auf Weinsäure	$^1/_4$ Decke.
„ Äpfelsäure	$^1/_4$ „
„ Bernsteinsäure	$^3/_4$ sehr dünne Decke.
„ Zitronensäure	Wenig gewachsen.
„ Essigsäure	Sehr wenig gewachsen.
„ Milchsäure	Nahezu volle Decke.
„ Traubenzucker	$^1/_8$ Decke.
„ Rohrzucker	Wenig gewachsen.
„ Glyzerin	$^1/_4$ Decke.
„ Alkohol	Wenig gewachsen.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß das Chlorammonium, wie das phosphorsaure und das salpetersaure, den Kahmhefen teilweise als sehr gute Stickstoffquelle dienen kann. Besonders wenn außer dem Chlorammonium in den Nährflüssigkeiten Äpfelsäure, Bernsteinsäure oder Milchsäure enthalten sind, ist die Kahmvegetation eine äußerst reiche. Bemerkenswert ist es, daß bei Gegenwart von Chlorammonium die Essigsäure von einigen Kahmheferassen stark in Angriff genommen wird,

so daß sie am 30. November 1902 aus den Kulturflüssigkeiten vollständig verschwunden war, während sich auf den Oberflächen der betr. Flüssigkeiten dicke Kahmhefedecken gebildet hatten, so bei den Kahmhefen Nr. 1, 3, 15, 16 und 21a. Andere Kahmheferassen können auf der Essigsäure-Nährlösung nicht oder nur in geringem Grade wachsen. Hierzu gehören die Rassen 8, 10 und 21b.

Ein kräftiges Wachstum der Kahmhefen findet z. T. auch statt, wenn in den Chlorammonium-Nährlösungen Alkohol, Traubenzucker, Rohrzucker oder Glyzerin vorhanden sind.

Im allgemeinen sind wiederum die Weinsäure und die Zitronensäure, wie auch aus den früheren Versuchen hervorgeht, schlechte kohlenstoffhaltige Nährstoffe für die Kahmhefen. Eine Ausnahme bildet in dieser Hinsicht wieder die Kahmheferasse Nr. 4, welche auf der Zitronensäure-Nährlösung sehr gut wächst und, wie die chemische Untersuchung gezeigt hat, diese organische Säure vollständig aufbraucht.

Wie auf den Nährlösungen mit phosphorsaurem und salpetersaurem Ammonium, so wachsen auch auf den Chlorammonium enthaltenden Lösungen die Kahmheferassen 8, 10 und 21b verhältnismäßig schlecht. Von den organischen Säuren wird noch am besten die Milchsäure und Bernsteinsäure zum Aufbau neuer Kahmhefezellen usw. benutzt. Auch der Alkohol wird von der Kahmheferasse Nr. 10 zu gleichem Zwecke einigermaßen gut verarbeitet.

Versuch XIX. In diesem Versuche wurden den Nährlösungen in einem Falle 5‰ weinsaures Ammonium, im anderen 5‰ Asparagin als Stickstoffquelle gegeben, und in einem Parallelversuch neben diesen stickstoffhaltigen Substanzen noch Chlorammonium (5‰). Die Impfung geschah am 24. Juli 1902 auf je 100 ccm der betr. Nährflüssigkeiten. Die Beobachtungen über das Wachstum der Kahmhefen ergaben folgendes:

Kahmhefe Nr. 1.

	am 28. Juli 1902	am 29. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium Weinsaures Ammonium allein	schwaches Wachstum	etwas gewachsen	wenig gewachsen
Asparagin + Chlorammonium . . . . Asparagin allein . .	kaum gewachsen	etwas gewachsen, auf Asparagin + Chlorammonium mehr als auf Asparagin allein	etwas gewachsen

Kahmhefe Nr. 3.

	am 28. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium		etwas gewachsen
Weinsaures Ammonium allein	etwas gewachsen	
Asparagin + Chlorammonium . . .		wenig gewachsen
Asparagin allein . .		

Kahmhefe Nr. 4.

	am 28. Juli 1902	am 29. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium	etwas gewachsen	wenig gewachsen	1/4 Decke
Weinsaures Ammonium allein	desgl.	desgl.	1/8 Decke
Asparagin + Chlorammonium	1/32 Decke	1/8 Decke	volle Decke
Asparagin allein . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen	desgl.

Kahmhefe Nr. 8.

Weinsaures Ammonium + Chlorammonium	etwas gewachsen	etwas gewachsen	
Weinsaures Ammonium allein			wenig gewachsen
Asparagin + Chlorammonium	1/64 Decke	1/32 Decke	
Asparagin allein . .	nicht gewachsen	kaum gewachsen	

Kahmhefe Nr. 10.

	am 28. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Weinsaures Ammonium allein	desgl.	1/4 Decke
Asparagin + Chlorammonium	1/4 Decke	1/4 Decke
Asparagin allein . .	kaum gewachsen	sehr wenig gewachsen

Kahmhefe Nr. 15.

	am 28. Juli 1902	am 29. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium Weinsaures Ammonium allein	wenig gewachsen	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Asparagin + Chlorammonium . . .	1/4 Decke	1/4 Decke	3/4 dünne Decke
Asparagin allein . .	1/4 "	1/4 "	1/4 Decke

Kahmhefe Nr. 16 (geimpft am 28. Juli 1902).

	am 30. Juli 1902	am 31. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium Weinsaures Ammonium allein	1/4 Decke	1/4 Decke	1/4 Decke
Asparagin + Chlorammonium . . . Asparagin allein . .	3/4 Decke	3/4 Decke	3/4 Decke

Kahmhefe Nr. 21a.

	am 28. Juli 1902	am 29. Juli 1902	am 30. November 1902
Weinsaures Ammonium + Chlorammonium Weinsaures Ammonium allein . . . . . Asparagin + Chlorammonium . . . Asparagin allein . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen	1/4 sehr dünne Decke

Kahmhefe Nr. 21b.

Weinsaures Ammonium + Chlorammonium Weinsaures Ammonium allein	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Asparagin + Chlorammonium . . .	1/32 Decke	1/16 Decke	1/8 Decke
Asparagin allein . .	kaum gewachsen	kaum gewachsen	sehr wenig gewachsen

Nach diesen Tabellen ist das weinsaure Ammonium wie die Weinsäure eine schlechte kohlenstoffhaltige Quelle für die Kahmhefen. Dasselbe gilt im allgemeinen auch für das Asparagin. Nur die Kahmhefe Nr. 4 vermag das Asparagin sehr gut zu verarbeiten, etwas weniger gut die Kahmheferassen Nr. 15 u. 16. (Vergl. auch Versuche VIII u. IX).

IV. Über die Lebensfähigkeit der fortgesetzt auf künstlichen Nährlösungen kultivierten Kahmhefen.

Um die Frage zu beantworten: „Sind die Kahmheferassen, welche aus einer Traubensaftkultur in künstliche Nährlösungen übergeimpft und dort gewachsen sind, bei weiterer direkter Kultur auf künstlichen Nährlösungen lebensfähig?“, mußte der neue

Versuch XX angestellt werden. Derselbe zerfällt in drei Teile:

1. in eine Ammonium-Nitratreihe,
2. „ „ „ -Chloridreihe,
3. „ „ „ -Phosphatreihe,

d. h. in dem ersten Falle wurde der künstlichen Nährlösung B als Stickstoffquelle 5 ‰ salpetersaures Ammonium, im zweiten 5 ‰ Chlorammonium und im dritten 5 ‰ phosphorsaures Ammonium gegeben. Die Nährlösungen erhielten außerdem als kohlenstoffhaltige Substanzen, voneinander getrennt, die organischen Säuren: Weinsäure, Milchsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Essigsäure.

Durch diesen Versuch konnte dann die weitere Frage beantwortet werden, ob bei fortgesetzter Kultur die Kahmhefen tatsächlich die organischen Säuren zum Aufbau ihres Zellleibes immer wieder zerstören. Hierdurch erhält der hierfür früher geführte experimentelle Beweis noch eine kräftige Stütze.

A. Die Ammonium-Nitrat-Reihe.

I. Versuchsreihe.

Die betreffenden Nährlösungen wurden in größeren Mengen hergestellt, und zwar in sechs Partien. Die Nährlösungen (Nährlösung B) erhielten in 1000 ccm destillierten Wassers: 5 g tertiäres phosphorsaures Kalium, 3 g schwefelsaure Magnesia, 1 g primären phosphorsauren Kalk, 5 g salpetersaures Ammonium.

Außerdem wurden dieser Nährlösung die organischen Säuren getrennt voneinander hinzugefügt, so daß die 6 verschiedenenen Nährlösungen folgende Zusammensetzung zeigten:

Lösung 1	1 Liter Nährlösung	B + 10 g Weinsäure	
„ 2	„ „ „	B + 10 ccm Milchsäure	
„ 3	„ „ „	B + 10 g Zitronensäure	
„ 4	„ „ „	B + 10 g Bernsteinsäure	
„ 5	„ „ „	B + 10 g Äpfelsäure	
„ 6	„ „ „	B + 10 ccm Essigsäure.	

Von diesen Nährlösungen wurden mit der Pipette 100 ccm in 200 ccm-Kölbchen gefüllt, letztere mit Wattestopfen versehen und dann im strömenden Dampf 1/2 Stunde lang sterilisiert. Die chemische Untersuchung der Nährlösungen ergab folgende Resultate:

Lösung 1	enthielt	9,94 ‰	Gesamtsäure	Auf Weinsäure berechnet, mit Lackmus als Indikator titriert.
„ 2	„	7,99 „	„	
„ 3	„	10,35 „	„	
„ 4	„	12,08 „	„	
„ 5	„	10,69 „	„	
„ 6	„	13,16 „	„	

Geimpft wurden die Nährflüssigkeiten am 3. März 1908, vormittags 11 Uhr, mit vier Tage alten Kulturen der Kahmheferassen Nr. 1, 3, 4, 5, 8, 15, 16, 21a, 32 und 43.

Die einzelnen Beobachtungen über das Wachstum der Kahmhefen in der ersten Versuchsreihe ergaben folgende Resultate:

auf	6. März 1908	9. März 1908	11. März 1908	16. März 1908
		Kahmhefe Nr. 1.		
Weinsäure . .	nicht gewachsen	—	—	1/8 äußerst feine Decke
Äpfelsäure . .	etwas gewachs.	kaum gewachsen	kleine dichte Kolonien	fast volle, sehr feine Decke
Bernsteinsäure .	etwas gewachs.	1/2 sehr zarte D.	3/4 feine Decke	volle feine D.
Zitronensäure .	wenig gewachs.	wenig gewachs.	1/2 äußerst feine Decke	3/4 äußerst feine Decke
Essigsäure . .	nicht gewachsen	—	—	wenig gewachsen
Milchsäure . .	etwas gewachs.	1/32 Deke	fast volle feine Decke	volle feine D.
		Kahmhefe Nr. 3.		
Weinsäure . .	—	—	3/4 äußerst feine Decke	volle, äußerst feine Decke
Äpfelsäure . .	1/2 Decke	volle, etwas gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle glatte D.

auf	6. März 1908	9. März 1908	11. März 1908	16. März 1908
Bernsteinsäure .	wenig gewachs.	fast volle feine Decke	volle gefaltete Decke	volle glatte D.
Zitronensäure .	etwas gewachs.	etwas gewachs.	fast volle, äuß. feine Decke	fast volle, äuß. feine Decke
Essigsäure . .	etwas gewachs.	wenig gewachs.	$^1/_4$ äußerst feine Decke	volle glatte D.
Milchsäure . .	$^1/_2$ Decke	volle, etwas gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke

Kahmhefe Nr. 4.

Weinsäure . .	—	—	etwas gewachsen	volle, äußerst feine Decke
Äpfelsäure . .	$^1/_4$ Decke	volle glatte D.	volle glatte D.	volle glatte D.
Bernsteinsäure .	volle Decke	volle gefaltete D.	volle gefaltete D.	volle glatte D.
Zitronensäure .	$^3/_4$ Decke	volle glatte D.	volle Decke	volle glatte D.
Essigsäure . .	—	—	—	fast volle, äuß. feine Decke
Milchsäure . .	volle Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke

Kahmhefe Nr. 5.

Weinsäure . .	—	$^1/_2$ kaum sichtbare Decke	$^1/_2$ ganz feine zarte Decke	$^1/_2$ äußerst feine Decke
Äpfelsäure . .	$^3/_4$ feine Decke	fast volle Decke	fast volle Decke	fast volle feine Decke
Bernsteinsäure .	$^1/_2$ feine Decke	$^1/_2$ Decke	$^1/_2$ Decke	$^4/_5$ feine Decke
Zitronensäure .	—	$^3/_4$ äußerst feine, kaum sichtb. D.	ganz feine zarte Decke	volle, sehr feine Decke
Essigsäure . .	—	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen
Milchsäure . .	fast volle feine Decke	fast volle Decke	$^4/_5$ zarte Decke	$^4/_5$ feine Decke

Kahmhefe Nr. 8.

Weinsäure . .	—	einige kleine Kolonien	etwas gewachsen	fast volle, sehr zarte Decke
Äpfelsäure . .	$^3/_4$ Decke	fast volle feine Decke	nahezu volle dünne Decke	volle feine D.
Bernsteinsäure .	$^1/_2$ Decke	fast volle feine Decke	nahezu volle dünne Decke	volle feine D.
Zitronensäure .	—	$^1/_{32}$ Decke	$^3/_4$ sehr zarte D.	$^3/_4$ sehr zarte D.
Essigsäure . .	—	ganz geringe Entwicklung	etwas gewachsen	$^1/_4$ äußerst feine Decke
Milchsäure . .	$^1/_{16}$ Decke	$^2/_5$ feine Decke	etwas über $^2/_5$ Decke	volle feine D.

auf	6. März 1908	9. März 1908	11. März 1908	16. März 1908
		Kahmhefe Nr. 15.		
Weinsäure		etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^{1}/_{2}$ äußerst feine Decke
Äpfelsäure	etwas gewachsen	$^{2}/_{5}$ feine Decke	dünne zarte D.	volle glatte D.
Bernsteinsäure		fast volle, sehr feine Decke	dünne zarte D.	volle feine D.
Zitronensäure		$^{1}/_{2}$ äußerst dünne Decke	feine, sehr zarte Decke	volle, äußerst feine Decke
Essigsäure	—	etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^{1}/_{2}$ äußerst feine Decke
Milchsäure	$^{3}/_{4}$ Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke
		Kahmhefe Nr. 16.		
Weinsäure	—	wenig gewachs.	etwas gewachs.	etwas gewachsen
Äpfelsäure	$^{4}/_{5}$ Decke	volle glatte D.	volle Decke	volle glatte D.
Bernsteinsäure	$^{1}/_{20}$ Decke	$^{3}/_{4}$ Decke	volle Decke	volle glatte D.
Zitronensäure	etwas gewachsen	fast volle, äuß. feine Decke	ganz dünne zarte Decke	volle, äußerst feine Decke
Essigsäure	etwas gewachsen	wenig gewachs.	wenig gewachs.	etwas gewachsen
Milchsäure	$^{1}/_{2}$ Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gerunzelte Decke
		Kahmhefe Nr. 21 a.		
Weinsäure	etwas gewachsen	wenig gewachs.	etwas gewachsen	$^{1}/_{8}$ äußerst feine Decke
Äpfelsäure	$^{1}/_{8}$ Decke	$^{1}/_{4}$ Decke	$^{1}/_{2}$ Decke	$^{2}/_{3}$ feine Decke
Bernsteinsäure	$^{1}/_{20}$ Decke	$^{1}/_{2}$ Decke	$^{1}/_{2}$ Decke	volle feine Decke
Zitronensäure	etwas gewachsen	$^{1}/_{4}$ kaum sichtbare Decke	feine, sehr zarte Decke	volle, äuß. feine Decke
Essigsäure	etwas gewachsen	wenig gewachs.	etwas gewachsen	$^{1}/_{8}$ äußerst feine Decke
Milchsäure	$^{1}/_{2}$ Decke	volle glatte D.	volle glatte D.	volle gefaltete D.
		Kahmhefe Nr. 32.		
Weinsäure	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^{1}/_{2}$ sehr feine D.
Äpfelsäure	$^{1}/_{20}$ Decke	$^{2}/_{3}$ feine Decke	$^{1}/_{4}$ Decke	$^{2}/_{3}$ feine Decke
Bernsteinsäure	$^{1}/_{8}$ Decke	$^{1}/_{2}$ feine Decke	über $^{1}/_{2}$ Decke	fast volle feine D.
Zitronensäure	—	$^{1}/_{4}$ äußerst feine Decke	sehr zarte Decke	fast volle feine D.
Essigsäure	—	$^{1}/_{16}$ äußerst feine Decke	etwas gewachsen	fast volle feine D.
Milchsäure	$^{1}/_{30}$ Decke	$^{1}/_{16}$ Decke	$^{1}/_{8}$ Decke	volle feine Decke

auf	6. März 1908	9. März 1908	11. März 1908	16. März 1908
Kahmhefe Nr. 43.				
Weinsäure . .	etwas gewachsen	wenig gewachs.	etwas gewachsen	$^1/_{16}$ äußerst feine Decke
Äpfelsäure . .	etwas gewachsen	$^2/_5$ Decke	sehr zarte volle Decke	volle zarte D.
Bernsteinsäure .	etwas gewachsen	$^3/_4$ sehr feine D.	sehr zarte volle Decke	volle zarte D.
Zitronensäure .	etwas gewachsen	$^1/_4$ sehr feine D.	ganz feine zarte Decke	ganz feine zarte Decke
Essigsäure . .	etwas gewachsen	wenig gewachs.	etwas gewachsen	etwas gewachsen
Milchsäure . .	2 qcm Decke	$^1/_4$ feine Decke	$^3/_4$ sehr zarte Decke	volle zarte D.

Die mikroskopische Untersuchung der betr. Kahmhefen ergab am 11. März 1908 folgende Resultate:

Kahmhefe Nr. 1.

Auf Weinsäure: die Zellen sind klein, kugelig-oval, daneben kommen ab und zu pastoriane Formen vor. In vielen Zellen ist bereits eine kleine Ölkugel vorhanden. Das Plasma ist substanzarm.

Auf Äpfelsäure: neben ganz kleinen, rundovalen Zellen werden einige größere, ovale beobachtet. Letztere scheinen die ausgesäten Zellen zu sein. Die kleineren Zellen sind im Sproßverband mit den größeren.

Auf Bernsteinsäure: wie bei Äpfelsäure.

Auf Zitronensäure: meist kleine ovale Zellen mit großen Vakuolen und substanzarmem Plasma.

Auf Essigsäure: —.

Auf Milchsäure: wie bei Äpfelsäure.

Kahmhefe Nr. 3.

Auf Weinsäure: vielfach pastoriane Formen neben ovalen; Öltropfen sind in den Zellen kaum vorhanden. Das Plasma ist sehr substanzarm.

Auf Äpfelsäure: die Zellen sind klein, oval bis rund. In ihnen sind ganz kleine Ölkugeln sichtbar.

Auf Bernsteinsäure: meist ovale Zellen mit kleinen Ölkugeln.

Auf Zitronensäure: große, ovale bis runde Zellen, daneben pastoriane; in sehr vielen Zellen ist eine größere Ölkugel zu sehen.

Auf Essigsäure: meist große, ovale Zellen, daneben auch pastoriane; in manchen große Ölkugeln.

Auf Milchsäure: die Zellen sehen gut ernährt aus, ihre Gestalt ist oval bis pastorian in typischen Sproßverbänden. Die Zellen sind ohne Fettkugeln.

Kahmhefe Nr. 4.

Auf Weinsäure: neben runden und rundovalen Zellen sind vielfach pastoriane Zellen sichtbar. Die Zellen sehen sehr gesund, weiß-bläulich aus und sind schwach glykogenhaltig. Ein Geruch der Flüssigkeit nach Essigäther wird nicht wahrgenommen.

Auf Äpfelsäure: runde bis rundovale Zellen; in fast jeder eine große Ölkugel. Kein Geruch nach Essigäther.

Auf Bernsteinsäure: wie bei Äpfelsäure. Kein Geruch nach Essigäther.

Auf Zitronensäure: meist kleine runde Zellen, daneben etwas größere ovale. Hin und wieder sind in den Zellen kleine Ölkugeln bemerkbar. Kein Geruch nach Essigäther.

Auf Essigsäure: die Zellen sind etwas pastorian gestaltet und enthalten kleine Fettkugeln. Kein Geruch nach Essigäther.

Auf Milchsäure: wie bei Äpfelsäure. Kein Geruch nach Essigäther.

Kahmhefe Nr. 5.

Auf Weinsäure: —.

Auf Äpfelsäure: ovaler Typus der Zellen, daneben aber auch sehr viele kleine, rundovale Zellen in Sprossung; in den meisten Zellen kleine Kerne.

Auf Bernsteinsäure: die Zellen sind wie bei der Äpfelsäure gestaltet, aber schärfer konturiert und dementsprechend plasmareicher.

Auf Zitronensäure: —.

Auf Essigsäure: —.

Auf Milchsäure: wie bei Äpfelsäure.

Kahmhefe Nr. 16.

Auf Weinsäure: neben ovalen Zellen sind sehr viele pastoriane Formen vorhanden.

Auf Äpfelsäure: vielfach pastoriane Formen, daneben aber auch rundoval gestaltete Zellen.

Auf Bernsteinsäure: wie bei Äpfelsäure.

Auf Zitronensäure: rundovale Zellen, daneben pastoriane Formen von gutem Aussehen.

Auf Essigsäure: —.

Auf Milchsäure: neben ovalen Zellen sind kleine pastoriane vorhanden.

Kahmhefe Nr. 21 a.

Auf Weinsäure: —.

Auf Äpfelsäure: vorherrschend ovale Zellen.

Auf Bernsteinsäure: neben ovalen sind langgestreckte pastoriane Zellen vorhanden.
Auf Zitronensäure: wurstförmig-pastoriane Zellen, die gut ernährt sind.
Auf Essigsäure: —.
Auf Milchsäure: kleine pastoriane Zellen.

Kahmhefe Nr. 32.

Auf Weinsäure: —.
Auf Äpfelsäure: ovale Zellen, daneben auch eine Anzahl pastorianer Formen.
Auf Zitronensäure: —.
Auf Essigsäure: —.
Auf Milchsäure: rundovale Zellen, daneben viele kleine ovale.

Kahmhefe Nr. 43.

Auf Weinsäure: —.
Auf Äpfelsäure: meist ovale Zellen, auch runde und typische ovalpastoriane Zellen.
Auf Bernsteinsäure: runde, ovale und pastoriane Formen, die größeren mit Fettkugeln.
Auf Zitronensäure: ovalpastoriane Zellen, die schlecht ernährt sind.
Auf Essigsäure: —.
Auf Milchsäure: rundovale Zellen.

2. Versuchsreihe.

Am 11. März 1908, vormittags 10 Uhr, wurden aus den einzelnen Kölbchen die Kahmhefen in frische Nährlösungen derselben Zusammensetzung übergeimpft. Ausgenommen wurden die Kahmhefen Nr. 5, 8, 32 und 43 der Essigsäure-Reihe, die noch zu wenig gewachsen sind. Die Beobachtungen des Wachstums der Kahmhefen ergaben folgende Resultate:

auf	am 16. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
Kahmhefe Nr. 1				
Weinsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	sehr feine Decke
Äpfelsäure . .	fast volle, äußerst feine Decke	volle, sehr feine Decke	volle glatte Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
Zitronensäure .	$^3/_4$ äußerst feine Decke	$^3/_4$ äußerst feine Decke	$^3/_4$ äußerst feine Decke	dünne Decke
Essigsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure . .	$^3/_4$ sehr feine Decke	fast volle, sehr feine Decke	volle gefaltete Decke	volle Decke

auf	am 16. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
Kahmhefe Nr. 3				
Weinsäure . .	wenig gewachsen	$^1/_2$ sehr feine Decke	$^3/_4$ sehr feine Decke	feine Decke
Äpfelsäure . .	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle Decke, gut entwickelt
Bernsteinsäure	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	desgl.
Zitronensäure .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	fast volle, sehr feine Decke	feine Decke
Essigsäure . .	volle glatte Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke	gute Decke
Milchsäure . .	volle Decke	volle, stark gefaltete Decke	volle, stark gefaltete Decke	volle, stark gefaltete Decke
Kahmhefe Nr. 4				
Weinsäure . .	wenig gewachsen	kaum gewachsen	fast volle, sehr feine Decke	feine Decke
Äpfelsäure . .	$^3/_4$ feine Decke	volle gefaltete Decke	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	volle, zart gefaltete Decke	desgl.	desgl.	desgl.
Zitronensäure .	kaum gewachsen	volle Decke	desgl.	desgl.
Essigsäure . .	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Milchsäure . .	volle, zarte, gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle Decke	volle Decke
Kahmhefe Nr. 8				
Weinsäure . .	—	$^1/_4$ sehr feine Decke	$^1/_4$ sehr feine Decke	$^1/_4$ sehr feine Decke
Äpfelsäure . .	$^5/_6$ feine Decke	fast volle, sehr feine Decke	volle, sehr feine Decke	$^3/_4$ schwache Decke
Bernsteinsäure	$^1/_{20}$ Decke	$^1/_{20}$ Decke	$^1/_{20}$ Decke	$^3/_4$ Decke
Zitronensäure .	—	—	äußerst feine Decke	feine schleierartige Decke
Essigsäure . .	—	—	—	—
Milchsäure . .	$^3/_5$ Decke	fast volle, feine Decke	volle, sehr feine Decke	feine Decke
Kahmhefe Nr. 15				
Weinsäure . .	—	—	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Äpfelsäure . .	—	—	volle glatte Decke	volle, gut entwickelte Decke
Bernsteinsäure	—	—	$^1/_2$ äußerst feine Decke	volle feine Decke
Zitronensäure .	—	—	wenig gewachsen	kaum gewachsen
Essigsäure . .	—	—	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Milchsäure . .	volle feine Decke	volle, stark gefaltete Decke	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke

auf	am 16. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
Kahmhefe Nr. 16				
Weinsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	1/2 sehr feine Decke	feine Decke
Äpfelsäure . .	volle glatte Decke	volle gefaltete Decke	volle Decke	volle, gut entwickelte Decke
Bernsteinsäure	volle gerunzelte Decke	volle, blumenkohlähnliche Decke	desgl.	desgl.
Zitronensäure .	1/2 äußerst feine Decke	1/2 sehr feine Decke	fast volle, sehr feine Decke	feine Decke
Essigsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure . .	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke	volle gerunzelte Decke
Kahmhefe Nr. 21 a				
Weinsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	feine Decke	feine Decke
Äpfelsäure . .	fast volle feine Decke	volle sehr feine Decke	volle glatte Decke	volle, gut entwickelte Decke
Bernsteinsäure	1/3 sehr feine Decke	1/8 feine Decke	volle gefaltete Decke	desgl.
Zitronensäure .	2/5 sehr feine Decke	2/5 sehr feine Decke	volle, sehr feine Decke	feine Decke
Essigsäure . .	1/16 sehr feine Decke	1/3 sehr feine Decke	wenig gewachsen	etwas gewachsen
Milchsäure . .	volle glatte Decke	volle zart gefaltete Decke	volle glatte Decke	volle Decke
Kahmhefe Nr. 32				
Weinsäure . .	fast volle, äußerst feine Decke	fast volle, äußerst feine Decke	volle, sehr feine Decke	ganz feine, zarte Decke
Äpfelsäure . .	etwas gewachsen	1/8 feine Decke	1/3 feine Decke	1/2 dünne, schwache Decke
Bernsteinsäure	1/20 Decke	1/2 feine Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Zitronensäure .	wenig gewachsen	wenig gewachsen	volle, sehr feine Decke	ganz feine, zarte Decke
Essigsäure . .	—	—	—	—
Milchsäure . .	1/16 Decke	1/4 feine Decke	volle glatte Decke	volle glatte Decke
Kahmhefe Nr. 43				
Weinsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	vereinzelte Kolonien
Äpfelsäure . .	desgl.	1/2 feine Decke	1/2 feine Decke	3/4 Decke
Bernsteinsäure	1/3 feine Decke	2/5 feine Decke	2/5 feine Decke	3/4 ganz dünne, zarte Decke
Zitronensäure .	1/2 äußerst feine Decke	3/5 feine Decke	3/5 feine Decke	feine, zarte Decke
Essigsäure . .	—	—	—	—
Milchsäure . .	1/4 feine Decke	1/3 feine Decke	1/8 feine Decke	1/8 feine Decke

3. Versuchsreihe.

Am 7. Juli 1908, nachmittags 4 Uhr, wurden die Kahmhefen der 2. Versuchsreihe in frische Nährlösungen derselben Zusammensetzung wie früher übergeimpft, nur wurde diesmal der Gesamtsäuregehalt der Lösungen auf 5 ‰ herabgesetzt, da, wie es auch aus den früheren Versuchen hervorgeht, der hohe Säuregehalt entwicklungshemmend auf die Kahmhefen einwirken kann.

Der Zeitraum zwischen der zweiten und dritten Impfung wurde diesmal länger bemessen, um die gewachsenen Kahmhefen in einen starken Hungerzustand übergehen zu lassen und um zu sehen, ob trotz des langen Hungerzustandes der Organismen die verschiedenen organischen Säuren zu einer Vermehrung der Kahmhefezellen benutzt werden können, mit andern Worten, ob die Kahmhefen in einem älteren Lebenszustande befähigt sind, die organischen Säuren in ihren Lebensprozeß hereinzuziehen. Durch das lange Stehenlassen der Kulturen vor der Impfung sollte auch ein stärkeres Wachstum der Kahmhefen zwecks Überimpfung erzielt werden. Die chemische Untersuchung der Kontroll-Nährlösungen ergab folgendes Resultat:

Lösung 1:	4,69 ‰	Weinsäure	auf Weinsäure berechnet mit Lackmus als Indikator titriert.
„ 2:	3,87 ‰	Milchsäure	
„ 3:	5,21 ‰	Zitronensäure	
„ 4:	5,78 ‰	Bernsteinsäure	
„ 5:	5,06 ‰	Äpfelsäure	
„ 6:	5,78 ‰	Essigsäure	

Das Überimpfen der Kahmhefen geschah mit einer Platinnadel, sobald eine gute Entwicklung der Organismen vorhanden war, und nur bei schwacher Entwicklung der Kahmhefen wurde die Impfung mit einer Platinöse vorgenommen.

Die Beobachtungen der 3. Versuchsreihe ergaben folgende Resultate:

auf	am 11. Juli 1908	am 16. November 1908
	Kahmhefe Nr. 1.	
Apfelsäure	gewachsen	gut gewachsen
Bernsteinsäure . . .	desgl.	desgl.
Milchsäure	desgl.	desgl.
Weinsäure	—	sehr wenig gewachsen
Zitronensäure . . .	—	wenig gewachsen
Essigsäure	—	sehr wenig gewachsen

auf	am 11. Juli 1908	am 16. November 1908
	Kahmhefe Nr. 3.	
Weinsäure	etwas gewachsen	etwas gewachsen
Äpfelsäure	$^1/_{32}$ Decke	volle Decke
Bernsteinsäure . . .	nahezu volle Decke	desgl.
Zitronensäure . . .	halbe Decke	halbe Decke
Essigsäure	volle gefaltete Decke	volle gefaltete Decke
Milchsäure	gewachsen	volle Decke
	Kahmhefe Nr. 4.	
Weinsäure	$^1/_6$ Decke	$^1/_5$ Decke
Äpfelsäure	$^1/_8$ Decke	volle Decke
Bernsteinsäure . . .	nahezu volle Decke	desgl.
Zitronensäure . . .	$^1/_5$ Decke	desgl.
Essigsäure	—	—
Milchsäure	volle Decke	volle Decke
	Kahmhefe Nr. 5.	
Äpfelsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Bernsteinsäure . . .	desgl.	desgl.
Milchsäure	desgl.	desgl.
	Kahmhefe Nr. 8.	
Weinsäure	von einer Entwickelung der Kahmhefen nichts zu sehen	—
Äpfelsäure		wenig gewachsen
Bernsteinsäure . . .		
Zitronensäure . . .		
Essigsäure		—
Milchsäure		ganz feine Decke
	Kahmhefe Nr. 15.	
Weinsäure	—	—
Äpfelsäure	sehr wenig gewachsen	volle Decke
Bernsteinsäure . . .	etwas gewachsen	desgl.
Zitronensäure . . .	desgl.	wenig gewachsen
Essigsäure	—	—
Milchsäure	sehr wenig gewachsen	volle Decke
	Kahmhefe Nr. 16.	
Weinsäure	etwas gewachsen	$^1/_2$ sehr dünne Decke
Äpfelsäure	$^1/_8$ Decke	volle Decke
Bernsteinsäure . . .	wenig gewachsen	desgl.
Zitronensäure . . .	$^1/_3$ Decke	$^1/_2$ Decke
Essigsäure	—	wenig gewachsen
Milchsäure	$^1/_8$ Decke	volle Decke

auf	am 11. Juli 1908	am 16. November 1908
	Kahmhefe Nr. 21a.	
Weinsäure	etwas gewachsen	$^1/_2$ Decke
Äpfelsäure	desgl.	volle Decke
Bernsteinsäure . . .	nahezu volle Decke	desgl.
Zitronensäure . . .	$^1/_8$ Decke	$^1/_2$ Decke
Essigsäure	—	wenig gewachsen
Milchsäure	$^1/_3$ Decke	volle Decke
	Kahmhefe Nr. 32.	
Weinsäure	von einem Wachstum der Kahmhefen ist nichts zu sehen	sehr wenig gewachsen
Äpfelsäure		
Bernsteinsäure . . .		
Zitronensäure . . .		
Essigsäure		
Milchsäure	—	wenig gewachsen ($^1/_{16}$ Decke)
	Kahmhefe Nr. 43.	
Weinsäure	—	wenig gewachsen
Äpfelsäure	etwas gewachsen	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure . . .	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Zitronensäure . . .	—	desgl.
Essigsäure	—	—
Milchsäure	—	sehr wenig gewachsen

Mikroskopische Untersuchung der Kahmhefen der 3. Versuchsreihe am 24. November 1908.

Kahmheferassen	nicht übergeimpft	auf frischen Traubensaft übergeimpft
Nr. 1 auf Milchsäure . .	Lange pastoriane Zellen wechseln mit klein ovalen ab; in jeder Zelle liegen eine oder mehrere scharf umgrenzte Fettkugeln. Die Zellen sind außerordentlich plasmaarm.	Große Kolonien mit pastorianen Zellen, welche im allgemeinen nicht so lang sind wie die Zellen der nicht übergeimpften Kahmhefen. Die Fettkugeln in den Zellen sind sehr selten. Die Zellen sind plasmareich und enthalten größere Vakuolen. Neben den pastorianen Formen kommen auch kleine ovale vor.

Kahmheferassen	nicht übergeimpft	auf frischen Traubensaft übergeimpft
auf Bernsteinsäure	Vorwiegend lange pastoriane Zellen mit Fettkugeln, daneben auch kleine ovale Zellen.	Pastoriane Zellen neben sehr vielen ovalen; die pastorianen Zellen sind nicht so lang wie die Zellen der nicht übergeimpften Kahmhefen.
auf Äpfelsäure . .	Wie vorher bei Bernsteinsäure.	Wie vorher bei Bernsteinsäure.
Nr. 3		
auf Zitronensäure .	Zum Teil pastoriane Formen mittlerer Größe, zum Teil ovale Zellen mit Fetttröpfchen.	Verhältnismäßig große pastoriane und ovale Zellen, daneben sehr viele kleinere. Die Zellen sehen sehr gut ernährt aus und jede ist mit einer oder zwei großen Fettkugeln versehen.
auf Milchsäure . .	Pastoriane-ovale Zellen mit Fetttröpfchen, daneben kleinere ovale Zellen.	Wie bei Zitronensäure.
auf Bernsteinsäure	Wie bei Milchsäure.	Wenig gewachsen, wie bei Zitronensäure.
auf Äpfelsäure . .	Wie bei Milchsäure.	Wie bei Zitronensäure.
Nr. 4		
auf Zitronensäure .	Runde bis rund-ovale Zellen. Der Inhalt der Zellen ist stark reduziert. Ein Geruch der Flüssigkeit nach Essigäther wird nicht wahrgenommen.	Die Zellen sind rund bis rundoval gestaltet. Die kleinen pastorianen Zellen sind seltener. In jeder Zelle ist ein Fetttröpfchen vorhanden. Die Essigätherbildung ist wieder eingetreten.
auf Weinsäure . .	Die Gestalt der Zellen ist wie die der Zellen der Kahmhefen auf Zitronensäure. Die Zellen sind jedoch zum Teil plasmareicher und enthalten dann keine Fettkugel, während die ausgemergelten Zellen sämtlich solche besitzen.	Es hat sich ebenfalls nach dem Wachsen der Kahmhefen Essigäther im Traubensaft gebildet. Die Zellen sind sonst wie die auf Zitronensäurelösung gewachsenen gestaltet.
auf Milchsäure . .	Die Zellen sind wie die auf Weinsäure gewachsenen gestaltet, zum Teil plasmareicher und haben dann keine oder nur sehr kleine Fettkugeln in ihrem Innern.	Essigäthergeruch ist nach dem Wachsen der Kahmhefen bemerkbar. Zellengestalt wie bei Kahmhefe Nr. 4 auf Zitronensäure.
auf Bernsteinsäure	Wie auf Weinsäure.	Essigäthergeruch des Traubensaftes ist vorhanden. Sonst Zellen wie auf Zitronensäure.

Kahmheferassen	nicht übergeimpft	auf frischen Traubensaft übergeimpft
auf Äpfelsäure . .	Die Zellen sind sehr klein, rund bis rund-oval.	Essigäthergeruch vorhanden. Zellen wie auf der Zitronensäurelösung gestaltet.
Nr. 5		
auf Milchsäure . .	Im Präparat liegen große Kolonien der Kahmhefen, die aus kleinen pastorianen oder rund-ovalen Zellen mit Fetttröpfchen bestehen.	Die Kahmhefen sind nicht gewachsen und werden deshalb am 24. November 1908 noch einmal übergeimpft.
Nr. 8		
auf Milchsäure . .	Es sind größere runde Zellen vorhanden. Daneben klein-pastoriane Formen und unregelmäßig gestaltete Zellen. Auch ovale Zellen mit Fetttröpfchen werden wahrgenommen.	Die Zellen sind zum Teil schwach nierenförmig oder pastorian wie die nicht übergeimpften Zellen. Die runden Zellformen fehlen hier.
Nr. 15		
auf Milchsäure . .	Es sind größere ovale und sehr viele kleine runde Zellen vorhanden, die in ihrem Innern Fetttröpfchen enthalten.	Die Zellen sind lang-pastorian oder groß-oval gestaltet. Die Kultur ist durch eine Kugelbakterienart infiziert, was jedoch bei der nicht übergeimpften Kultur nicht der Fall ist.
auf Bernsteinsäure	Die Zellen sind zum Teil pastorian gestaltet, plasmaarm; zum größten Teile sind die Zellen aber rund-oval.	Im Präparat liegen sehr lange pastoriane Formen im Sproßverband.
auf Äpfelsäure . .	Wie bei Bernsteinsäure.	Pastoriane, aber auch ovale Zellen.
Nr. 16		
auf Zitronensäure .	Mehr runde als ovale Zellen. Keine Infektion.	Die Kultur ist ebenfalls durch Kugelbakterien infiziert. Die Kahmhefezellen sind lang-pastorian oder pastorian-oval.
auf Weinsäure . .	Die Zellen sind zum Teil pastorian, zum größeren Teil klein-oval gestaltet mit kleinen Fettkugeln.	Wie auf Zitronensäure.
auf Milchsäure . .	Der Hauptmenge nach sind die Zellen klein-oval und sehr stark ausgemergelt. In ihrem Innern enthalten sie Fetttröpfchen. Die pastorianen Formen sind sehr selten.	Wie auf Zitronensäure.

Kahmheferassen	nicht übergeimpft	auf frischen Traubensaft übergeimpft
auf Bernsteinsäure	Die Zellen sind zum Teil pastorian, jedoch schmal und plasmaarm mit Fettkugeln, daneben kommen auch viele ovale Zellformen vor.	Wie auf Zitronensäure.
auf Äpfelsäure . .	Kleinere pastoriane Zellformen sind seltener. Der Hauptmenge nach sind die Zellen klein-oval gestaltet und besitzen in ihrem Innern Fettkugeln.	Wie auf Zitronensäure.
Nr. 21 a		
auf Zitronensäure .	Die Zellen sind zum größeren Teil pastorian gestaltet, klein und sehr substanzarm. Daher sind sie vom Gesichtsfelde schwer unterscheidbar. In ihrem Innern enthalten die Zellen Fettkugeln. Neben den pastorianen Formen kommen auch kleine ovale Zellen vor.	Neben größeren pastorianen Formen mit Fettkugeln liegen sehr viele kleinere ovale Zellen im Gesichtsfelde.
auf Weinsäure . .	Wie auf Zitronensäure.	Wie auf Zitronensäure.
auf Milchsäure . .	Die Zellen sind zum größeren Teil rund und oval gestaltet, zum geringeren Teile pastorian, im Innern mit Fettkugeln.	Wie auf Zitronensäure.
auf Bernsteinsäure	Es kommen fast nur runde und ovale Zellen mit sehr großen Fettkugeln vor; die pastorianen Formen sind sehr selten.	Wie auf Zitronensäure.
auf Äpfelsäure . .	Im Präparat liegen fast nur lange und schmale pastoriane Zellen mit einer oder zwei Fettkugeln im Innern.	Wie auf Zitronensäure.
Nr. 32		
auf Milchsäure . .	Die Zellen sind zum größten Teile rund bis rund-oval gestaltet und besitzen im Innern Fettkugeln.	Die Kultur ist nicht gewachsen, weshalb nochmals eine Überimpfung am 24. November 1908 erfolgte.

Die Kahmhefen der 3. Versuchsreihe wurden am 17. November 1908 in sterilen Weinsberger Traubensaft geimpft, um ihre Lebensfähigkeit darzutun, und es wurden dann sowohl die Kahmhefen der 3. Versuchsreihe, als auch diejenigen, welche auf dem frischen Traubensaft ge-

wachsen waren, am 24. November 1908 einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Hierbei wurden vorstehende Ergebnisse (Tabelle S. 205—208) festgestellt.

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeiten der 3. Versuchsreihe ergab am 24. November 1908 folgende Resultate:

Kahmhefe Nr. 1.

Milchsäure . . .	1,13 ‰,	Abnahme . .	2,74 ‰
Bernsteinsäure .	1,05 „	„ . .	4,73 „
Äpfelsäure . .	1,28 „	„ . .	3,78 „

Kahmhefe Nr. 3.

Zitronensäure .	5,25 ‰,	Zunahme . .	0,04 ‰
Essigsäure . . .	1,50 „	Abnahme . .	4,28 „
Milchsäure . .	1,05 „	„ . .	2,82 „
Bernsteinsäure .	1,05 „	„ . .	4,73 „
Äpfelsäure . .	0,83 „	„ . .	4,23 „

Kahmhefe Nr. 4.

Zitronensäure .	1,01 ‰,	Abnahme . .	4,20 ‰
Weinsäure . .	4,35 „	„ . .	0,34 „
Milchsäure . . .	1,05 „	„ . .	2,82 „
Bernsteinsäure .	0,79 „	„ . .	4,99 „
Äpfelsäure . .	0,83 „	„ . .	4,23 „

Kahmhefe Nr. 8.

Milchsäure . .	3,90 ‰,	Zunahme . .	0,03 ‰

Kahmhefe Nr. 15.

Milchsäure . .	0,83 ‰,	Abnahme . .	3,04 ‰
Bernsteinsäure .	1,28 „	„ . .	4,50 „
Äpfelsäure . . .	0,98 „	„ . .	4,08 „

Kahmhefe Nr. 16.

Zitronensäure .	5,10 ‰,	Abnahme . .	0,11 ‰
Weinsäure . . .	4,69 „	„ . .	0 „
Milchsäure . .	0,90 „	„ . .	2,97 „
Bernsteinsäure .	1,05 „	„ . .	4,73 „
Äpfelsäure . .	0,94 „	„ . .	4,12 „

Kahmhefe Nr. 21a.

Zitronensäure .	5,10 ‰,	Abnahme . .	0,11 ‰
Weinsäure . . .	4,65 „	„ . .	0,04 „
Milchsäure . .	0,90 „	„ . .	2,97 „
Bernsteinsäure .	0,75 „	„ . .	5,03 „
Äpfelsäure . .	0,86 „	„ . .	4,20 „

4. Versuchsreihe.

Die Kahmhefen der 3. Versuchsreihe wurden am 16. November 1908 in frische Nährlösungen derselben Zusammensetzung wie früher (5‰ Säure) übergeimpft. Die Überimpfung geschah mit Hilfe einer Platinnadel und nur bei schwacher Entwicklung der Kahmhefen mit einer Platinöse.

Die chemische Untersuchung der Nährflüssigkeit ergab folgende Resultate:

Lösung 1:	5,85 ‰	Zitronensäure		auf Weinsäure berechnet, mit Lackmus als Indikator titriert.
„ 2:	7,95 „	Essigsäure		
„ 3:	5,63 „	Weinsäure		
„ 4:	4,73 „	Milchsäure		
„ 5:	5,63 „	Bernsteinsäure		
„ 6:	6,00 „	Äpfelsäure		

Die Ergebnisse der Beobachtungen über das Wachstum der Kahmhefen sind folgende:

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
	Kahmhefe Nr. 1	
Milchsäure . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Bernsteinsäure .	etwas mehr gewachsen	volle Decke und Bodensatz
Äpfelsäure . .	halbe Decke	desgl.
	Kahmhefe Nr. 3	
Äpfelsäure . .	sehr wenig gewachsen	es hat sich nur ein Bodensatz gebildet
Bernsteinsäure .	desgl.	sehr wenig gewachsen
Zitronensäure .	etwas gewachsen	fast eine volle, aber sehr zarte Decke
Essigsäure . .	—	—
Milchsäure . .	wenig gewachsen	volle gefaltete Decke
	Kahmhefe Nr. 4	
Äpfelsäure . .	gewachsen (strahlenförmig an den Glaswandungen emporkletternd)	volle Decke
Bernsteinsäure .	volle Decke	desgl.
Zitronensäure .	desgl.	desgl.
Milchsäure . .	desgl.	desgl.
	Kahmhefe Nr. 5	
Milchsäure . .	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
Kahmhefe Nr. 8		
Milchsäure . .	in zahlreichen Einzelkolonien gewachsen	zahlreiche, nicht zusammenhängende Decken-Inseln
Kahmhefe Nr. 15		
Äpfelsäure . .	etwas gewachsen	volle Decke
Bernsteinsäure .	wenig gewachsen	etwas gewachsen
Milchsäure . .	volle Decke	volle Decke
Kahmhefe Nr. 16		
Äpfelsäure . .	$^1/_5$ Decke	volle Decke
Bernsteinsäure .	$^1/_5$ Decke	desgl.
Zitronensäure .	etwas gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure . .	sehr wenig gewachsen	volle Decke
Kahmhefe Nr. 21a		
Äpfelsäure . .	sehr wenig gewachsen	volle Decke
Bernsteinsäure .	sehr wenig gewachsen	desgl.
Zitronensäure .	$^1/_{32}$ Decke	wenig gewachsen
Milchsäure . .	$^1/_{16}$ Decke	volle Decke

Aus diesen Untersuchungen geht also hervor, daß die Kahmhefen, wenn sie auch von einer künstlichen Nährlösung, die Ammonium**nitrat** als Stickstoff- und eine der oben angeführten organischen Säuren als Kohlenstoffquelle enthält, auf künstliche Nährlösungen derselben oder ähnlicher Zusammensetzung in sehr geringen Mengen mehrfach übergeimpft werden, trotzdem ein sehr gutes Wachstum zeigen und infolge dieses Wachstums und sonstiger Lebensvorgänge auch die dargebotenen organischen Säuren zerstören können. Die meisten der zum Versuch verwendeten Kahmheferassen vermögen besonders die Milchsäure als kohlenstoffhaltige Quelle zu verwerten. Aber auch die Äpfelsäure und Bernsteinsäure wird von einigen Rassen unter Deckenbildung zerstört. Die Kahmheferasse Nr. 4 (Willia anomala) zeichnet sich wiederum dadurch aus, daß sie auf der Zitronensäure-Nährlösung trotz vierfacher Überimpfung eine volle Decke entwickelt hat.

(Schluß folgt im nächsten Heft.)

Kleine Mitteilungen.

Bemerkungen zu Josef Weese: Studien über Nectriaceen.

Von Dr. **A. Osterwalder**,

Adjunkt an der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädenswil.

In einer in den „Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft“, Jahrgang 1911, erschienenen Abhandlung: „Über eine neue auf kranken Himbeerwurzeln vorkommende Nectria und die dazugehörige Fusarium-Generation“ beschrieb ich vor mehr als Jahresfrist eine Nectria und ein Fusarium; ich konstatierte den Zusammenhang zwischen beiden und bezeichnete auf Grund der vorhandenen Literatur, insbesondere von L. Rabenhorsts Kryptogamen-Flora den Pilz als eine neue Nectria, als Nectria Rubi. Wie ich nun erst letzthin im ersten Band der „Zeitschrift für Gärungsphysiologie“ beachtete, will Jos. Weese [1]) den genannten Pilz nicht als eine neue Spezies gelten lassen, dagegen als eine Varietät von Nectria mammoidea Phil. et Plowr. auffassen.

Nach dem genannten Forscher soll hauptsächlich die Beschaffenheit der Perithezienmembran für die Auffindung der verwandtschaftlichen Beziehungen einer Nectria wichtig sein und namentlich hierauf gestützt, weil die Gehäusewandung bei beiden Pilzen gleich beschaffen sei, kommt Weese zu dem erwähnten Resultat. Überdies soll sich auch in der Größe und Form, sowie in der Mündungsscheibe des Peritheziums eine Übereinstimmung ergeben haben, nicht dagegen in der Größe der Askussporen, indem diejenigen von Nectria mammoidea 18—22 μ in der Länge und 6—7 μ in der Breite messen, während die von Nectria Rubi 15,9—18,6 resp. 4,6 bis 5,2 μ breit sind.

---

[1]) J. Weese, Studien über Nectriaceen. I. Über die von A. Osterwalder aufgefundene neue, auf kranken Himbeerwurzeln auftretende Nectria. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 126.

Anm. d. Red. Vergl. auch Josef Weese, Über den Zusammenhang von Fusarium nivale, den Erreger der Schneeschimmelkrankheit der Getreidearten und Wiesengräser, mit Nectria graminicola Berk. et Br., Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. II, 1913, S. 301.

Es ist ja nicht ausgeschlossen, daß N. Rubi in naher Verwandtschaft zu N. mammoidea steht und wirklich als Varietät von N. mammoidea gelten kann. Was mir aber an den Ausführungen Weeses auffällt, und mir die Feder in die Hand drückt, ist die geringe Überzeugungskraft derselben, sowie der Eindruck, daß Weese hier einen Pilz in einer seiner systematischen Schubladen unterbringt, ohne ihn vorher genügend zu kennen. Wie könnte Weese sonst von grünen Sporodochien sprechen, wo sie doch violett gefärbt sind. Daß sodann noch ein gründliches Studium an dem alten, wochenlang herumgelegenen Perithezien-Material möglich war, das mir leider nur noch zur Verfügung stand, als Herr J. Weese darum bat, erscheint mir wenig wahrscheinlich. Weese schreibt u. a.: Anfangs glaubte ich, daß die Nectria Rubi Osterw. mit der Nectria umbilicata P. Henn. identisch sei . . . Die Sporengröße und Form würde recht gut übereinstimmen und auch die Struktur der Perithezien, die bei Nectria umbilicata P. Henn. ebenso charakteristisch ist, wie bei Nectria mammoidea Ph. et Pl. Doch ein genauerer mikroskopischer Vergleich lehrte mich, daß bei Nectria umbilicata keine Spur von der äußeren, hyalinen Schicht zu bemerken ist, die für Nectria mammoidea und Nectria Rubi so kennzeichnend ist . . .“

Also lediglich einer Zellschicht wegen wird hier ein Pilz, den man nicht einmal genau kennt, zu einer Varietät von N. mammoidea gestempelt, während ein anderer, der ebensoviel Übereinstimmendes zeigt, als eine selbständige Spezies N. umbilicata daneben besteht. Wenn diese Perithezienmembran bei der Beurteilung systematischer Verhältnisse wirklich von so ausschlaggebender Bedeutung ist, dann möchten wir nur wünschen, daß ausführlichere diesbezügliche Untersuchungen den Beweis hierfür erbringen. Dann wird es auch an der Zeit sein, an Stelle des alten systematischen Gebäudes der Nectriaceen ein neues aufzuführen.

Entgegnung auf A. Osterwalders Bemerkungen zu meinen „Studien über Nectriaceen, I. Mitteilung".

(Zugleich einiges zur Charakteristik der Zustände in einzelnen Teilen der speziellen Mykologie.)

Von Jos. Weese, Wien.

Gekränkt durch das im ersten Punkt meiner „Studien über Nectriaceen, 1. Mitteilung[1])" veröffentlichte Resultat, daß Nectria Rubi Osterwalder[2]) auf Grund meiner Untersuchung nicht als neue Art, sondern nur als Varietät der seit 1875 bekannten Nectria mammoidea Phil. et Plowr. betrachtet werden kann, hat sich Herr Dr. A. Osterwalder als der geistige Urheber dieser auf kranken Himbeerwurzeln aufgefundenen, neuen Art genötigt gesehen, das Wort zu ergreifen und in den voranstehenden Bemerkungen der Meinung Ausdruck zu verleihen, daß ihm an meinen Ausführungen in dieser Frage die geringe Beweiskraft derselben auffällt und daß er den Eindruck habe, daß ich hier einen Pilz in einer meiner „systematischen Schubladen" unterbringe, ohne ihn vorher genügend zu kennen. Würde der Leserkreis dieser Zeitschrift nur aus Mykologen bestehen, die in der systematischen Forschung im Gebiete der höheren Pilze Erfahrung haben, so könnte ich mich wahrlich nach dem von Herrn Osterwalder Dargebotenen überhoben fühlen, darauf zu antworten, weil ja die meisten ohne Entgegnung meinerseits sich ein Urteil in meinem Sinne bilden würden. Da aber dies nicht der Fall ist und der Leserkreis dieser Zeitschrift meist aus Praktikern und aus Mykologen mehr physiologischer Richtung besteht, so sehe ich mich doch gezwungen, auf die wohl ziemlich irreführenden Bemerkungen Dr. Osterwalders zu antworten, um nicht den Eindruck zu erwecken, als fühle ich mich durch Herrn Osterwalders Ausführungen geschlagen und wage es

---

[1]) Zeitschrift f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 126—155.

[2]) A. Osterwalder, Über eine neue auf kranken Himbeerwurzeln vorkommende Nectria und die dazu gehörige Fusarium-Generation. Berichte d. Deutsch. Botan. Gesellschaft, Bd. 29, Dezember 1911, S. 611—622, Taf. XXII.

nicht, dem wohl deutlich genug, allerdings nur indirekt ausgesprochenen Vorwurf, leichtfertig gearbeitet und geurteilt zu haben, entgegenzutreten.

A. Osterwalder hatte aus den Sporodochien eines neuen Fusariums eine Nectria erhalten, die er als Nectria Rubi nov. spec. beschrieb und in die Sektion Hyphonectria stellte und von der er mir auf meinen Wunsch, wie er selbst sagt, „altes, wochenlang herumgelegenes“ Perithezienmaterial schickte, auf Grund dessen genauester und gewissenhaftester Untersuchung[1]) ich zu dem eingangs angeführten Resultat kam. Mich hat also nur die Nectria beschäftigt, nicht das Fusarium, das ich ja gar nicht untersuchen konnte, da ich ja nur Perithezienmaterial zur Verfügung hatte. Wenn nun aber Osterwalder auf Grund meiner durch ein Versehen entstandenen Angabe bezüglich der Farbe der Fusariumsporodochien die Behauptung aufstellt, daß ich ja den Pilz nicht einmal genügend kenne, so liegt darin wohl etwas Verdrehungskunst, denn jeder ersieht aus meiner Arbeit, daß mich die Sporodochien-Farbe gar nicht beschäftigt hat und nur ganz nebenbei im ersten einleitenden Absatz, wo kein Wort von meinen eigenen Untersuchungen zu finden ist, erwähnt wurde. Die Farbe der Sporodochien ist nun aber wahrlich für die Entscheidung der Frage, ob die Hauptfruchtform, also die Nectria, eine neue Art darstellt, bei dem heutigen Stande unseres Wissens — wir kennen ja nur ganz wenige, an den Fingern einer Hand abzählbare Fälle, wo Nectria-Arten als sicher mit Fusarien zusammenhängend festgestellt wurden — gänzlich belanglos. Übrigens macht ja Osterwalder selbst darauf aufmerksam, daß die Farbe der Sporodochien variiert.

Lassen wir nur Osterwalder einmal selbst sprechen. Da sagt er an einer Stelle auf Seite 619: „Wenn nun auch in den Größenverhältnissen der Sporen sowie in der Färbung der Sporodochien bei den Kulturen zwischen Fusarium und der Nectria erhebliche Unterschiede zutage traten und bei den Fusarium-Kulturen nie Perithezien entstanden, so zweifeln wir doch keinen Augenblick daran, auf Grund der mitgeteilten Beobachtungen, daß die beiden Pilze identisch sind, d. h. daß das Fusarium zu Nectria gehört und deren Konidiengeneration darstellt.“

---

[1]) Die Untersuchung war an dem allerdings nicht glänzenden Material noch ganz gut durchzuführen. Nectria-Material kann ja in gut gehaltenen Herbarien ein Jahrhundert ohne besondere Konservierung erhalten werden, ohne daß es für Untersuchungen wertlos wird. Herr Osterwalder hat gewiß an die große Zahl käuflicher Exsikkaten und an die großen Herbarien nicht gedacht, die reiche Schätze von mehr als „wochenlang herumgelegenem“ Material bergen, die für die Nachuntersuchungen von unersetzlichem, unschätzbarem Werte sind. Übrigens könnte man nicht Herrn Osterwalder wegen der gleichgültigen Behandlung des Originalmateriales einer neuen Art — wie kostbar und wichtig Originalmaterial in der Systematik ist, weiß doch jeder wissenschaftlich tätige Botaniker — einen leisen Vorwurf machen? Hätte nicht Herr Osterwalder, da es sich ja um einen biologisch und systematisch interessanten Pilz handelte, bemüht sein sollen, seinen Pilz in größerer Menge zu erhalten, um ihn an verschiedene Museen und Institute abgeben zu können?

Noch eine zweite Stelle auf Seite 620: „Auffällig ist, daß die Sporodochien auf den Himbeerwurzeln violett gefärbt erscheinen, dagegen nicht auf den übrigen verwendeten Substraten, während die Konidiensporenlager der Nectria auf Gelatine wie auf den Kartoffelstengeln diesen Farbstoff wieder bilden."

So steht es mit der Farbenangelegenheit der Sporodochien, die ja mit meinen Untersuchungen gar nichts zu tun hat, aus der mir aber Herr Osterwalder in seinen fast sophistischen Ausführungen gern einen Strick drehen möchte. Hätte ich nur so etwas wie die zwei angeführten Sätze ausgesprochen, so hätte gewiß die „geringe Überzeugungskraft" Herrn Osterwalder in seinem Skeptizismus „die Feder in die Hand gedrückt" und die Zusammengehörigkeit des Fusariums und der Nectria wäre ihm sicher nicht über alle Zweifel erhaben gewesen. Doch diese Frage ist ja in meiner Arbeit gar nicht berührt worden.

Nun, wie ist denn eigentlich Herr Osterwalder dazu gekommen, seinen Pilz als bisher unbekannt zu betrachten. In seiner Entgegnung sagt er auf Grund der vorhandenen Literatur, insbesondere von L. Rabenhorsts Kryptogamenflora. Die „vorhandene Literatur" muß wohl recht spärlich gewesen sein, wenn Rabenhorsts Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz das Hauptwerk war. Dem Kenner der Literatur wird allerdings dieses Eingeständnis, daß insbesondere auf Grund dieses Werkes die Frage, ob der aufgefundene Pilz als neu betrachtet werden müsse, entschieden wurde, besonders wertvoll sein; denn es ist wahrlich eine Naivität, Rabenhorst in dieser Angelegenheit als entscheidende Instanz aufzufassen. Der hier in Betracht kommende, sich also mit den Pyrenomyceten beschäftigende, von G. Winter verfaßte Band von Rabenhorsts Kryptogamenflora ist nämlich im Jahre 1887 erschienen und nach dem heutigen Stande unseres Wissens gänzlich veraltet.

Winters vor einem Vierteljahrhundert abgeschlossenes Werk, das sich noch dazu nur auf Deutschland, Deutsch-Österreich und die Schweiz beschränkt, enthält im ganzen 47 Nectria-Arten, von denen aber 7 Arten als unvollständig und weniger genau bekannte Arten bezeichnet sind, die also größtenteils nicht mehr nachkontrolliert werden können und über die sich nur mehr oder minder wahrscheinliche Vermutungen aufstellen lassen, wie ich es auch bezüglich einiger getan habe. Es bleiben also nur 40 Arten als vollständig bekannte übrig. Von diesen 40 Arten sind aber wieder nach den von v. Höhnel und mir ausgeführten und wenigstens in vorläufigen Mitteilungen bis August 1911 — Osterwalder begann seine Untersuchungen am 10. August 1911 und hat sein Manuskript am 10. November 1911 bei der Deutschen Botan. Gesellschaft überreicht — publizierten Untersuchungen Nectria Ribis (Tode), N. ditissima Tulasne, N. ochracea Fries, N. Aquifolii (Fries), N. episphaeria (Tode) Fr. und N. fimicola Fuckel als Synonyme von Arten, die auch in diesem Werk angeführt sind, zu streichen;

N. Desmazieri de Notaris, N. Pandani Tulasne, N. discophora und N. Daldiniana de Notaris sind anders zu benennen und N. dacrymycella (Nyl.), N. fuscidula Rehm, N. alpina Winter, N. paludosa (Fuckel), N. Fuckelii Saccardo, N. lichenicola (Cesati), N. erythrinella (Nylander) und N. charticola (Fuckel) gehören überhaupt nicht in die Gattung Nectria. Die Beschreibungen der übrigen Nectria-Arten sind durchwegs ungenügend und manchmal unrichtig, so daß eine richtige und sichere Bestimmung bloß auf Grund dieses Werkes ohne gutes Vergleichsmaterial zu den Zufällen und zu den Seltenheiten gehört. So kläglich schaut also das Hauptwerk der Osterwalderschen Nectria-Literatur aus, auf Grund dessen die Nectria Rubi Osterw. in stolzer Schöpferfreude als neue Art verkündet wurde.

Damit mir aber Herr Osterwalder nicht abermals die geringe Überzeugungskraft meiner Darlegungen vorwerfen kann, will ich doch heute noch einiges erwähnen, das Herrn Osterwalder nicht ganz bekannt zu sein scheint und etwas ausführlicher werden.

Wenn man eine neue europäische Nectria beschreiben will, so ist es doch mindestens notwendig, den angeblich neuen Pilz mit allen bekannten europäischen Arten zu vergleichen, wenn auch dieser Vorgang noch nicht genügt, um den Pilz, der ja aus anderen Erdteilen schon bekannt sein kann, sicher als neuen bezeichnen zu können. Nun sind aber aus Europa nicht vielleicht 47 Nectria-Arten, wie sie in Rabenhorsts Kryptogamenflora zu finden sind, beschrieben, sondern ungefähr 120 Arten, von denen Herr Osterwalder zur guten Hälfte keine Notiz nahm. Allerdings ist die Zahl durch v. Höhnels und meine Untersuchungen schon erheblich zusammengeschmolzen, doch darum hat sich der Autor der Nectria Rubi ja nicht gekümmert.

In seiner Originalabhandlung erwähnt leider Osterwalder von seiner Literatur nichts und erklärt folgendermaßen auf S. 617: „Bei einer Vergleichung mit den bereits bekannten Vertretern der Gattung Nectria war eine Identifizierung unmöglich; wir haben es hier mit einer neuen Spezies zu tun."

Der Vergleich des Pilzes mit den bereits bekannten Arten ist wissenschaftlich gerechtfertigt und auch unbedingt notwendig, denn jeder früher beschriebene Pilz, mit dem der in Untersuchung befindliche übereinstimmt, hat ja die Priorität. Nun wird es aber den Kenner der Verhältnisse doch lebhaft interessieren, wie denn Herr Osterwalder den Vergleich mit den bereits bekannten Arten durchgeführt hat, wenn Rabenhorst mit seinen 47 Arten sein Führer war, während die Nectria-Literatur nicht weniger als ca. 400 Arten als beschrieben ausweist.

Ich glaube, das genügt, um feststellen zu können, daß Herr Osterwalder wahrlich auf diesem Gebiet wenig Erfahrung haben muß. Nicht einmal über die notwendigste Literatur hat er sich orientiert. Allerdings nützt einem in der Gattung Nectria auch die beste Literatur nichts, denn

hier herrscht eine so schauderhafte Konfusion, die meisten Arten sind nicht nur unvollständig und häufig ganz falsch beschrieben, sondern auch von allen möglichen Autoren und in manchen Fällen sogar von ein und demselben Autor wiederholt als neu beschrieben worden, so daß man ohne genaue Kenntnis der den Beschreibungen zugrunde liegenden Originalexemplare gar nichts ausrichten kann. Hätte sich Osterwalder nur etwas in der neueren Literatur, die bis August 1911 erschienen ist, umgesehen, Seavers[1]), v. Höhnels[2]) und meine Arbeiten hätten ihm wohl die Augen etwas geöffnet.

Nach meinen Untersuchungen von Originalexemplaren aus den Museen Kew, Paris, Berlin, Wien usw. ist die Nectria discophora Montagne seit 1835 noch unter 6 verschiedenen Namen beschrieben worden (darunter viermal von dem verstorbenen Berliner Mykologen Prof. Paul Hennings), die Nectria Peziza (Tode) Fries, ein sehr häufiger und charakteristischer Saprophyt, seit 1791 unter 10, die Nectria suffulta Berk. et Broome seit 1873 auch unter 10 verschiedenen Benennungen u. zw. köstlicherweise von P. Hennings dreimal aus dem Botanischen Garten in Berlin (1898, 1899 und 1905), nachdem sie schon im Jahre 1889 von H. Rehm von demselben Ort dem ebengenannten Mykologen zu Ehren als Nectria Henningsii Rehm beschrieben worden war. Der Formenkreis der Nectria subquaternata Berk. et Br. (1873) umfaßt nach meinen Resultaten 10 verschieden benannte Arten, der von Nectria ochroleuca (Schwein.) Berk. (1832), zu welchem Pilz der vorhergenannte deutliche Übergänge zeigt, 9 und der von Nectria Bolbophylli P. Henn. ebensoviele. Und so könnte

---

[1]) Fred J. Seaver, The Hypocreales of North America. Mycologia, Bd. 1, 1909.

[2]) F. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, VI. Mitteilung, Nr. 182 bis 288, gleichzeitig 2. Mitteilung über die Ergebnisse der mit Unterstützung der Kaiserl. Akademie 1907—1908 von ihm ausgeführten Forschungsreise nach Java. (Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie d. Wissenschaften in Wien, math.-naturw. Kl., Bd. 118, 1909, S. 275—452). — F. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, IX. Mittlg., zugleich 5. Mitteilung über die usw. (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, Bd. 118, 1909, S. 1461—1552.) — F. v. Höhnel u. J. Weese, Zur Synonymie in der Gattung Nectria. (Annales Mycologici, Bd. 8, 1910, S. 464—468.) — F. v. Höhnel u. J. Weese, Zur Synonymie der Nectriaceen (2. vorläufige Mitteilung). Annales Mycologici, Bd. 9, 1911, S. 422—424. — Jos. Weese, Zur Kenntnis des Erregers der Krebskrankheiten an den Obst- und Laubholzbäumen. (Zeitschrift f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich, Juni 1911, S. 872—885, 1 Tafel.) In dieser Arbeit ist neben vielen systematischen Bemerkungen auch einiges über die Unverläßlichkeit der käuflichen Exsikkaten zu finden. Meine Ergebnisse sind 1910 und 1911 schon berücksichtigt worden in: Ferdinandsen and Winge, Fungi from. prof. Warmings expedition to Venezuela and The West-Indies. Botanik Tidsskrift, Bd. 30, 1910, S. 208—222. — O. Jaap, Verzeichnis der bei Triglitz in der Prignitz beobachteten Ascomyceten. Abhandlungen des Botanischen Vereins der Provinz Brandenburg, Bd. 52, 1910, S. 109—150. — Theissen, Die Hypocreaceen von Rio Grande do Sul, Südbrasilien. Annales Mycologici, Bd. 9, 1911. — Sydow et Butler, Fungi Indiae orientalis. Annales Mycologici, 1911, Bd. 9, S. 372—421.

ich noch manche Liste anführen, die meine Ansicht, daß die Gattung Nectria derzeit noch ein wahres Chaos darbietet, das nur durch gründliches Studium der Originalexemplare beseitigt werden kann, noch weiter stützen würde.

Wenn man nun bedenkt, daß diese Resultate zur Zeit, als Osterwalder seine Studien machte, schon in einer Zeitschrift, die ja jeder in der Systematik arbeitende Mykologe verfolgen muß (Annales Mycologici, Berlin), erschienen waren, so muß man sich wahrlich darüber wundern, daß genannter Forscher auf Grund so mangelhafter Literatur es gewagt hat, eine neue Art zu beschreiben und sie in eine der bisher üblichen Sektionen der Gattung — allerdings falsch — einzureihen.

Es ist ein wahres Unheil für die Systematik der Pilze, daß jeder, der auf Grund irgend eines Handbuches einen Pilz nicht bestimmen kann, sich schon berufen fühlt, den Pilz als neu zu beschreiben. Die unglückseligen Zustände, wie sie in einzelnen Gebieten der speziellen Mykologie jetzt herrschen, sind die natürliche Folge davon. Einzelne Gruppen wie die Phycomyceten, die Laboulbeniineen, die Uredineen, die Phalloideen und teilweise auch die Polyporeen usw. sind auf Grund der Originale schon gründlich durchgearbeitet worden, aber dafür schaut es in anderen Gruppen und besonders bei den Askomyceten und den Fungi imperfecti noch recht schrecklich aus. Doch haben hier nicht bloß Botaniker, die sich nur ganz gelegentlich mit der Mykologie befaßten, die Verwirrung geschaffen, sondern auch spezielle Mykologen von Ruf haben dabei tatkräftig mitgewirkt.

So hat z. B. J. Feltgen, der nach seinen „Vorstudien zu einer Pilzflora des Großherzogtums Luxemburg"[1]), die mehr als 1000 Seiten umfassen, sehr viel zur Kenntnis der mitteleuropäischen Askomyceten beigetragen zu haben scheint, im Laufe seiner mykologischen Tätigkeit 435 Formen als neu beschrieben, die sich in 241 Arten, 85 Varietäten und 109 Formen gliedern, die alle in dem großen mykologischen Sammelwerk der Sylloge Fungorum von Saccardo angeführt sind. Der Wiener Mykologe Hofrat Prof. v. Höhnel[2]) hat sich nach dem Tode Feltgens der großen Mühe unterzogen, nach den vorhandenen Originalexemplaren 292 solcher neuer Formen nachzuprüfen (die übrigen 143 waren im Herbarium Feltgen nicht mehr auffindbar), wobei sich herausstellte, daß nicht weniger als 251 davon aus irgend einem stichhaltigen Grunde gestrichen werden müssen. So schaut das Lebenswerk eines Mykologen aus, dessen Angaben in die mykologischen Handbücher übergegangen sind und wegen ihrer anscheinend

[1]) J. Feltgen, Recueil des Mémoires et des travaux, publiés par la société botanique du Grand-Duché de Luxembourg. Hauptarbeit samt Nachtrag I., 1897 bis 1899 (417 S.); Nachtrag II, 1901 (243 S.); Nachtrag III, 1903 (328 S.); Nachtrag IV, 1905 (91 S.).

[2]) F. v. Höhnel, Revision von 292 der von J. Feltgen aufgestellten Askomycetenformen auf Grund der Originalexemplare. (Sitzungsberichte d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien; math.-nat. Kl., Bd. 115, Abt. 1, 1906, S. 1189—1327.)

tiefgründigen Gelehrsamkeit mit Staunen und Bewunderung von der mykologischen Fachwelt aufgenommen wurden.

Ein anderes klassisches Beispiel zur Illustrierung der Zustände in einzelnen Teilen der speziellen Mykologie bieten die mykologischen Arbeiten des schon erwähnten Berliner Forschers Prof. Paul Hennings, der als Kustos am Königlichen Botanischen Museum zahlreiche Aufsammlungen aus den Tropen studieren konnte und dabei ungefähr 130 neue Pilzgattungen und wohl nach Hunderten zu zählende Pilzarten aufstellte.

v. Höhnel hat 122 Gattungen davon nach den Originalexemplaren nachgeprüft und beurteilt und ist zu dem Schlusse gekommen, daß Hennings Angaben fast durchweg unzuverlässig sind und daß von den untersuchten Gattungen 26 als gute richtig eingereihte Genera, 26 als gute Gattungen in falscher Stellung, 3 als sehr schwache, 12 als zweifelhafte, 8 als völlig zu streichende Gattungen, 41 als Synonyma bereits aufgestellter Genera, 1 als Alge und 3 als Flechten bezeichnet werden müssen.

Zwei Resultate will ich aber noch besonders anführen, da sie wahrhaft zwerchfellerschütternd wirken. Es handelt sich hier um die beiden Henningsschen Gattungen Phaeoscutella (1904) und Squamotubera (1903).

Erste Gattung besteht nach v. Höhnel aus den runden, häutigen Exkrementen eines Insektes, in dem neben vielen Hyphenstückchen und verschieden gestalteten Konidien auch größere mauerförmige Sporen vorkommen, die Hennings für Aszi hielt. Die zweite von Hennings ausführlich beschriebene Gattung ist ein morsches, dünnes, von einem Hypoxylon überzogenes Holzstück, das in mehrfacher Lage in ein dünnes Papier eingehüllt ist, welch letzteres der Berliner Forscher als „aschgraue, mehrschichtige Häute, die sich blättrig abheben lassen" bezeichnet. Ein Mykologe, der als Autorität in seinem Fache galt und von allen Seiten um Rat gefragt wurde, kann Pilzhyphen und Papierfasern unter dem Mikroskop nicht unterscheiden! Ich glaube, das ist wohl ein ziemlich niederschmetterndes und recht betrübendes Resultat.

v. Höhnel hat uns in seinen „Fragmenten zur Mykologie" noch viele hunderte solcher Ergebnisse auf Grund der Untersuchungen von Originalen verschiedener älterer und neuerer Forscher mitgeteilt, die ein deutliches Licht auf die Zustände in einzelnen Teilen der Pilzsystematik werfen, die aber merkwürdigerweise in die neuesten Bände von Saccardos Sylloge Fungorum nicht aufgenommen werden, während sicher die Angaben von Dilettanten auf mykologischem Gebiete dort bereitwilligst Aufnahme finden werden.

Wenn auch jetzt noch in einzelnen Teilen der Mykologie eine recht große Konfusion herrscht, so berechtigt das aber zu keinerlei Pessimismus, denn es zeigt sich schon deutlich eine Wendung zum Bessern. Eine größere Anzahl von Forschern wie Petch, Theissen, Diedecke usw. sind jetzt tätig, um auf Grund von Originalen alte und neuere Formen zu revidieren und richtig zu stellen und an Stelle der bisherigen Verwirrung Klarheit zu bringen.

Nun kehren wir noch einmal zu den Bemerkungen Herrn Osterwalders zurück. Da ich ja die Zustände in der Gattung Nectria aus ureigenster Erfahrung kenne, so bin ich weit davon entfernt, Herrn Osterwalder einen Vorwurf deshalb zu machen, daß er die Verwandtschaft seines Pilzes nicht richtig erkannt hat, aber ich kann doch auch den Vorwurf nicht auf mir sitzen lassen, in der Frage der Nectria Rubi leichtfertig geurteilt zu haben. Hätte Herr Osterwalder auf diesem Gebiete Erfahrung, würde er den Aufbau der Perithezienwandung bei den verschiedenen Typen der Gattung Nectria aus eigener Anschauung kennen, dann würde er sicher nicht mit solchen Argumenten gegen meine Ausführungen polemisieren. Osterwalders Bemerkungen bewegen sich in diesem Punkte nicht mehr in dem Rahmen einer ernst zu nehmenden Kritik. Den systematischen Wert der äußeren hyalinen Zellschicht von Nectria mammoidea, die so außerordentlich charakteristisch ist, kann wahrlich nur der beurteilen, der viele Vertreter dieser Gattung genau studieren konnte. Daß Osterwalder zu einem Urteil in dieser Frage infolge der ihm fehlenden Erfahrungen nicht berufen ist, geht aber deutlich aus meinen Ausführungen hervor. Schließlich und endlich würde die Nectria Rubi noch weniger als eigene Art angesehen werden können, wenn Osterwalder die Bedeutung der äußersten, hyalinen und so kennzeichnenden Zellschicht der Perithezienwandung nicht anerkennen will; denn in diesem Fall müßte sein Pilz vor allem als Synonym zu Nectria umbilicata P. Henn., die allerdings dann auch in dieselben engen Beziehungen zu Nectria mammoidea träte wie Osterwalders Pilz, gestellt werden und der von ihm als neue Art so hartnäckig verteidigte Pilz wäre seiner Selbständigkeit noch mehr beraubt.

Osterwalder wünscht, daß durch ausführlichere Untersuchungen der Beweis für meine Ansicht erbracht werde, daß die Perithezienmembran bei Beurteilung der verwandtschaftlichen Beziehungen von ausschlaggebender Bedeutung sei. Ich glaube, daß ich hierfür schon ziemlich überzeugende Beweise durch Beobachtungen hervorragender, führender Mykologen wie v. Höhnel[1]), Theissen und durch eigene erbracht habe. Möge Herr Osterwalder sich nur die Mühe nehmen, alle von mir in meiner Arbeit als verwandt bezeichneten Arten auf Grund von Originalen durchzustudieren, so wird ihm mein Prinzip zur Einteilung der Gattung Nectria als das nach phylogenetischen Gesichtspunkten möglichst richtige und den praktischen Bedürfnissen am besten entsprechende erscheinen.

Wer so wie ich viele hunderte von Exemplaren aus dieser Gattung aus den verschiedensten Erdteilen untersucht hat, der dürfte wohl mehr Erfahrung auf diesem Gebiete haben als ein Forscher, der auf Grund eines

---

[1]) Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften, math.-naturw. Klasse, Wien. Eine übersichtliche alphabetische Zusammenstellung der Resultate v. Höhnels, die auf Saccardos Wunsch für die Sylloge Fungorum gemacht wurde, aber nicht darin enthalten ist, ist jetzt in der Österreichischen Botanischen Zeitschrift im Erscheinen.

gänzlich veralteten und unvollständigen Werkes nur eine neue Art beschrieb, von der allerdings unter Nectria discophora der mit ihm fast vollkommen übereinstimmende, sich nur durch außerordentlich geringe Abweichungen in der Sporengröße unterscheidende Pilz auch in demselben Werke enthalten ist, was jedoch Osterwalder ganz entgangen ist. Daß Nectria discophora Fuckel mit Nectria discophora Mont. nicht übereinstimmt und Nectria mammoidea Phil. et Plowr. zu heißen hat, habe ich ja schon früher mitgeteilt. Und auf Grund meiner reichen Erfahrung kann ich getrost behaupten, daß der Aufbau der Perithezienmembran das konstanteste Merkmal vorstellt, während die Sporengröße und besonders das Stroma außerordentlich variiert. Die Saccardosche Sektioneneinteilung der Gattung Nectria beruht vielfach auf dem Auftreten eines Stromas oder Subikulums, wie auch Seaver die Gattung nach diesem Gesichtspunkte in zwei Gattungen zerlegt. Eine solche Einteilung ist aber unnatürlich, wie aus v. Höhnels, Theissens und meinen Beobachtungen, die ja in meinen Arbeiten angeführt sind, deutlich hervorgeht.

Für meine Ansicht ist in letzter Zeit ein neuer Verteidiger aufgetreten u. zw. der von Osterwalder durch seine mit Appel gemeinsam verfaßten „Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium (Link)“[1]) sehr geschätzte Mykologe H. W. Wollenweber (Washington), der in einer im Februar 1913 erschienenen Arbeit[2]) auf Grund seiner Kulturversuche sich zu v. Höhnels (1909) und Weeses (1911) Anschauung über den systematischen Wert des Stromas ausdrücklich bekennt. Ich kann hier nicht alles wörtlich wiedergeben und verweise daher auf die Originalarbeit und vor allem auf das Kapitel I: Unreliability of the stroma as a taxonomic character. In einer deutschen sich mit demselben Thema, aber nicht so ausführlich beschäftigenden Arbeit[3]) sagt derselbe Verfasser folgendes: „Bei Fries rücken Merkmale des Stromas sogar auf zu dem Range von Familienmerkmalen, worin nach Ansicht des Verfassers im Einklang mit E. F. Smith, v. Höhnel, Weese und anderen und im Gegensatz zu F. J. Seaver eine starke Überwertung liegt“.

Wenn Osterwalder in seinen Bemerkungen erklärt, daß es an der Zeit sei, an Stelle des alten systematischen Gebäudes der Nectriaceen ein neues aufzuführen, so hat damit Osterwalder nichts Neues ausgesprochen. Meine Studien über die Arten der Gattung Nectria bezwecken ja neben Feststellung der Formen vor allem die Aufstellung eines neuen Systems. In den Grundzügen habe ich es mir schon zurechtgelegt, aber solange noch

[1]) Arbeiten aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bd. VIII, Heft 1, 1910, S. 1—207, 2 Taf.

[2]) Wollenweber, Studies on the Fusarium problem. Journal of Phytopathology, Vol. III., Nr. 1, Februar 1913, S. 24—50, 1 Taf.

[3]) Wollenweber, Pilzparasitäre Welkekrankheiten der Kulturpflanzen. Berichte d. Deutschen Botan. Gesellsch., Bd. 31, Heft 1, Februar 1913, S. 17—34.

nicht einmal alle Arten der älteren Autoren revidiert sind, hätte es wahrlich wenig Wert und es wäre auch jedenfalls zu sehr gewagt, damit in die Öffentlichkeit zu treten. Die Revision der Arten ist die dazu unumgängliche Vorarbeit, denn ohne die Formen aus eigener Anschauung zu kennen, ist es unmöglich, sie in ein System einzureihen, das auf Merkmalen basiert, die gerade bisher in den Diagnosen gar nicht berücksichtigt wurden. Wie dornenvoll aber der Weg dieser bloßen Vorarbeit für den Monographen werden kann, ich glaube, das hat der Fall gezeigt, der in diesen Zeilen besprochen wurde und bei dem es sich lediglich um eine einzige Art handelte.

Hiermit erscheint für mich die Frage der Nectria Rubi Osterwalder als endgültig erledigt.

Referate.

Rogers, L. A. and Davis, B. J. Methods of classifying the lactic-acid bacteria. U. S. Dept. Agric. Bur. Anim. Ind. Bull. **154,** 1912.

Die bisher vorliegenden einschlägigen Arbeiten haben nach Ansicht der Verff. für die systematische Einordnung der Milchsäurebakterien sehr wenig Wert. Den sonst zur Einteilung benutzten Merkmalen, wie Zellgestalt, Wachstum auf Gelatine, Agar und in Milch usw. komme kaum eine maßgebende Bedeutung zu. Dagegen sei das Verhalten gegen gewisse C-Verbindungen, vor allem gegen Raffinose und Glyzerin sehr wichtig. 150 aus Milch und Molkereiprodukten isolierte, sämtlich Laktose zersetzende Stämme wurden in entsprechender Weise geprüft. Die analytischen Daten über ihr Säurebildungsvermögen sind tabellarisch zusammengestellt. Daß diese Eigenschaften ebenfalls nicht konstant sind, geht allerdings auch aus diesen Ergebnissen erneut hervor. Und wenn auf Grund der Säuerungs-Intensität die gelatineverflüssigenden Milchsäurebakterien in zwei Gruppen eingeordnet werden, von denen nachträglich festgestellt wird, daß die eine Mikrokokken, die andere Streptokokken umschließt, so dürfte doch vielleicht die mikroskopische Prüfung für eine „natürliche" Gruppierung der Organismen nicht so unwesentlich sein, wie Verff. meinen. Löhnis.

Lobeck, O. Ein neues Verfahren zur Herstellung einwandfreier Trinkmilch. Deutsche mediz. Wochenschr. **38,** 1912, S. 2082—2083.

Das Verfahren beruht darin, daß die Milch in zerstäubtem Zustande einer momentanen Erhitzung auf 75° C ausgesetzt und unmittelbar danach tief gekühlt wird. Der Rohzustand der Milch bleibt erhalten, die Enzymreaktionen zeigen keine Änderung, dagegen werden die pathogenen Keime, speziell die Tuberkelbazillen sicher abgetötet. Die nach 5—10 Tagen eintretende Gerinnung ist durch Heubazillen usw. veranlaßt. Löhnis.

Scheermesser, W. Eine neue Methode zur Konservierung lebender Kefirpilze (Naßkultur). Pharmaz. Ztg. **57**, 1912, S. 977—978.

Da der Bestand an lebenden Mikroben in den trockenen Kefirkörnern oft zu wünschen übrig läßt, wird empfohlen, das frische Material abzupressen und in kalt gesättigter Rohrzuckerlösung aufzubewahren. Löhnis.

Grimmer, W. Zur Frage nach der Fermentnatur der Milchperoxydase. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel **25**, 1913, S. 85—88.

Hesse und Kooper hatten geglaubt, die Peroxydase-Reaktionen der Milch auf deren Alkalinität zurückführen zu können. Da diese Annahme vom Verf. als unrichtig erwiesen worden ist, sehen die genannten Autoren neuerdings die in der Milch vorhandenen Eisenverbindungen als wirkendes Agens an. Auch diese Hypothese wird als irrig zurückgewiesen. Löhnis.

Whittaker, H. A. A synthetic milk medium. Americ. Journ. Public. Health **2**, 1912, S. 162, ref. Experiment Stat. Record **27**, S. 74.

Verf. empfiehlt für bakteriologische Untersuchungen als Standardmedium folgende künstliche Milch: 15 g reines Caseïnogen wird in 100 ccm einer (unter Verwendung von destilliertem Wasser hergestellten) 1 proz. Natronlauge gelöst, was 18—24 Stunden in Anspruch nimmt. Mit destilliertem Wasser wird auf 900 ccm verdünnt, 10 g Laktose und 0,1 g $CaCl_2$ zugegeben und auf 1000 ccm aufgefüllt. Nach erfolgter Neutralisation wird mit Normal-Salzsäure (gegen Phenolphtalein) auf + 0,3 eingestellt und das klare Substrat im Autoclav durch 20 Minuten dauerndes Erhitzen auf 107° C sterilisiert. Durch B. coli wird es in 24 Stunden koaguliert. Löhnis.

Naray, A. Ein neues, gelben Farbstoff erzeugendes Bakterium in der Milch (Bact. chromoflavum). Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **35**, 1912, S. 222—233.

Aus einer bei 95° C pasteurisierten Sahne, die fehlerhaft schmeckende Butter lieferte, wurde eine, hauptsächlich durch eigenartige wurmförmige Kolonien ausgezeichnete Bakterie isoliert, die in ihren sonstigen Eigenschaften dem Bact. fulvum nahesteht. Die Gelatine sowie der Käsestoff der Milch wurden rasch und vollständig gelöst, die Milch erhielt eine gelbe Farbe, bitteren Geschmack und fauligen Geruch. Die letale Temperatur lag bei 60° C; das Vorkommen in der pasteurisierten Sahne beruhte auf nachträglicher Infektion. Löhnis.

Zur Kenntnis der Aktivierung der Hefe.

Von **Hans Euler** und **Jakob Sahlén**.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

Während Giftwirkungen an Mikroorganismen in zahlreichen experimentellen und theoretischen Arbeiten behandelt worden sind, liegen über Aktivierungen noch relativ wenige quantitative Angaben vor, unter welchen besonders diejenigen von Hüne, A. Koch und Broun Fred zu nennen sind.

Die für das Verständnis der aktivierenden Wirkungen notwendige Unterscheidung zwischen der Beförderung des Wachstums einerseits und der Erhöhung der Gärwirkungen der Zellen — also einer Beschleunigung der Enzymwirkung — andererseits ist erst in neueren Arbeiten gemacht worden. Was zunächst die Wachstumsbeförderung betrifft, so sind außer den bekannten Untersuchungen von Effront über die Einwirkung des Fluors auf Hefe folgende Angaben zu erwähnen:

Die ersten Beobachtungen verdankt man Raulin[1]), welcher zeigte, daß man die Entwickelung von Schimmelpilzen in hohem Grade durch Zusätze von Zink- und anderen Metallsalzen zur Nährlösung steigern kann.

Nägeli (1893) hat die von ihm beobachteten wachstumsfördernden Einflüsse minimaler Giftmengen als „oligodynamische Wirkungen" bezeichnet.

Später hat dann Kosinski[2]) den günstigen Einfluß der Zinksalze auf die Atmungstätigkeit von Aspergillus und Javillier[3]) auf den Myzelzuwachs festgestellt.

Auch Kupfersalze können, wie schon lange bekannt, das Wachstum von Mikroorganismen befördern. Ein ähnliches Resultat erzielte bezgl.

---

[1]) Raulin, Ann. des sciences Bot., Bd. 5, 1869, Heft 11, S. 93.

[2]) Kosinski, Jahrb. wiss. Bot., Bd. 37, 1901.

[3]) Javillier, Ann. de l'Institut Pasteur. 1908.

Aspergillus niger Ono[1]), welcher bei einem Zusatz von 0,004% eine Verdoppelung des Erntegewichts beobachtete; 0,064% fand er bereits schädlich. In Übereinstimmung hiermit steht der Nachweis von Kanter[2]), daß eine Konzentration von 0,005% begünstigt. Nach Hattori[3]) liegt die günstigste Konzentration für Aspergillus bei 0,004%, für Penicillium bei 0,008%.

Für Hefe fand Pozzi-Escot[4]) einen Kupfersulfatzusatz von 0,01% bis 0,002% günstig. Eine Vermehrung der Gärungstätigkeit der Hefe fand Krüger[5]) bei einer Sulfatkonzentration von 0,003%.

Sehr sorgfältige Messungen über die Wachstumsbeschleunigung von Bakterien durch Giftreize verdankt man Hüne (Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 48, 1909, S. 135) und E. Broun Fred.

Nach E. Broun Fred[6]) wird das Wachstum der Bierhefe durch 0,001% Kupfervitriol begünstigt[7]).

Auch für Eisen- und Mangansalze wurde ein günstiger Einfluß auf die Hefeentwicklung konstatiert und zwar bei einer Konzentration von ungefähr 0,01% Eisen. Mangan wurde bereits von Raulin als Reizstoff verwendet und zwar bei Aspergillus niger mit positivem Erfolg.

Zeit	ccm CO_2			
Stunden	$HgCl_2$ = 0	Diff.	$HgCl_2$ = 0,0002%	Diff.
8,45	9,50		13,00	
9,00	9,80	0,30	13,40	0,40
9,15	10,00	0,20	13,90	0,50
9,30	10,20	0,20	14,00	0,10
9,45	10,70	0,50	14,60	0,60
10,00	11,00	0,30	15,00	0,40
10,15	11,45	0,45	15,55	0,55
10,30	11,95	0,50	16,10	0,55
1,00	17,30		21,90	
1,15	17,75	0,45	22,60	0,70

[1]) Ono, Journ. of science. Tokyo 1900.

[2]) Kanter, Dissertation. St. Petersburg 1913.

[3]) Hattori, Bot. Inst. Univers. Tokyo 1900.

[4]) Pozzi-Escot,

[5]) Krüger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 1.

[6]) E. Broun Fred, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 31, 1911, S. 185.

[7]) In einer nach Abschluß der vorliegenden Mitteilung erschienenen umfassenden Arbeit von Th. Bokorny (Biochem. Zeitschr., Bd. 50, 1913, S. 1) wird aber Bierhefe durch 0,001% Kupfervitriol bereits getötet.

Giftiger als Kupfersalze ist für die Hefe Sublimat, wenngleich es nach den Beobachtungen von Weinke (a. a. O.) und Wehmer[1]) ein verhältnismäßig schwaches Hefengift ist. Nach Schulz (a. a. O.) soll auch bei diesem Stoff eine begünstigende Wirkung der Gärung gegenüber eintreten und zwar bei einer Konzentration von 0,0002 %. Die vorstehenden Zahlen, welche die in den nebenstehenden Zeiten entwickelte Anzahl ccm angeben, zeigen, daß die Angaben dieses Verfassers einer Nachprüfung bedürftig sind.

Unter den best untersuchten Optimalkonzentrationen von Aktivatoren in Nährlösungen von Mikroorganismen sind diejenigen der Wasserstoffionen. Eine gewisse Konzentration dieser Ionen begünstigt sowohl das Wachstum als auch die Gärwirkungen, während eine weitere Vergrößerung dieser Konzentration in beiden Hinsichten hemmend wirkt. Die Optimalkonzentrationen der Wasserstoffionen liegen für verschiedene Mikroorganismen ganz verschieden, worauf mehrere Methoden zur Verbesserung des Hefengutes durch Säuerung beruhen. Angaben über solche Optimalkonzentrationen gegenüber Schimmelpilzen hat Nikitinsky[2]) gebracht. Das Verhalten der Hefen gegenüber Wasserstoffionen wird gegenwärtig von anderer Seite monographisch behandelt und soll deswegen hier nicht berührt werden.

Die Einwirkung der Säuren beruht indessen nicht nur auf der Wirkung der Wasserstoffionen, sondern auch auf der Natur der Anionen bezw. der nicht dissoziierten Moleküle. So üben z. B. Buttersäure, Weinsäure, Oxalsäure u. a. spezifische Einflüsse aus. Ameisensäure soll nach Duclaux[3]) in einer Konzentration von 0,04 % die Entwicklung der Bierhefe hemmen, während nach Beijerinck[4]) Milchsäure in bestimmten Konzentrationen die Hefebildung steigert.

Was speziell Kohlenstoffverbindungen betrifft, welche in kleineren Konzentrationen eine fördernde, in größeren Konzentrationen auf Mikroorganismen eine hemmende Wirkung ausüben, so liegen quantitative Angaben in bezug auf Schwefelkohlenstoff vor. Diese Substanz übt bekanntlich eine wachstumsfördernde Wirkung auf höhere Pflanzen aus, welche nach A. Koch als eine direkte Reizwirkung anzusehen ist.

Der gleiche Stoff soll nach einem von Goerner patentierten Verfahren die Vermehrung der Hefe begünstigen.

---

[1]) Wehmer, Chem. Zeitung, Bd. 21, 1897, S. 73; Bd. 23, 1899, S. 163.

[2]) Nikitinsky, Jahrb. wiss. Bot., Bd. 40, 1904, S. 1.

[3]) Duclaux, Ann. de l'Inst. Pasteur, Bd. 6, 1892, S. 593.

[4]) Beijerinck, Arch. Néerl., Bd. 23, 1890.

Koch konnte eine Anregung der Gärtätigkeit durch CS_2 nicht erzielen, dagegen wurde nach seinen Versuchen die Hefe durch Äther deutlich aktiviert (Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 31, 1911).

Nach Fred steigert Schwefelkohlenstoff in der Konzentration von 0,001 % die Vermehrung des Bacillus pyocyaneus.

Benzol, Toluol und Xylol wirken nach Wernke[1]) schon in Konzentrationen von 0,5, 0,3 und 0,12 % tötend auf die Hefe.

Phenol ist hinsichtlich seiner Wirkung auf Hefe mehrfach untersucht worden. An die ältesten Arbeiten von Buchholz, Hoffmann[2]) und Fleck[3]) schließt sich eine Untersuchung von Knoesel[4]) an, nach welcher eine Konzentration von 5 % für Hefezellen bereits tödlich ist. Eine Optimalkonzentration ist indessen nicht festgestellt worden.

Salizylsäure übt nach Will[5]) auf Hefe eine bedeutende Desinfektionswirkung aus. Aus den Versuchen von Schulz, welche unter anderen Substanzen auch Salizylsäure behandeln, läßt sich nur schwer ein Schluß auf die Art der Einwirkung der Salizylsäure auf Hefe ziehen. Bei seinen Versuchen wurde während 3 Stunden die Entwickelung von 2—5 ccm Kohlensäure beobachtet. Länger wurde die Gärung nicht verfolgt, und auch in dieser Periode zeigen die Kurven große Unregelmäßigkeiten.

Wehmer[6]) hat gezeigt, daß Benzoesäure und Salizylsäure in einer Konzentration von 0,1 % die Entwicklung der Hefe vollständig hemmen, während die entsprechenden Mengen von Meta- und Paraoxybenzoesäure die Hefe nicht wesentlich beeinflussen. Heinzelmann[7]) hat andererseits gefunden, daß Salizylsäure in einer Konzentration von 0,01 % die Hefeentwicklung begünstigt.

Nach einer Untersuchung von Biernacki wird durch den Eintritt einer zweiten Hydroxylgruppe in das Phenol die Giftigkeit dieses Stoffes nicht erhöht, sondern vielmehr vermindert.

---

[1]) Wernke, Dissertation, Dorpat 1879. Auf die Gärungshinderung durch Benzol hat schon früher Lintner aufmerksam gemacht. (N. Rep. Pharm., Bd. 19, 1870, S. 207.)

[2]) Hoffmann, Mykol. Ber., Bd. 1, 1870, S. 30.

[3]) Fleck, Vergleichende Versuche zur Feststellung des Wertes der Salizylsäure als Desinfektionsmittel, insbesondere als Pilz- und Hefengift. München, Oldenbourg, 1875, S. 53. Zitiert nach Will, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, Bd. 16, 1893, S. 151.

[4]) Knoesel, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 8, 1902, S. 241.

[5]) Will, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, Bd. 17, 1894, S. 61.

[6]) Wehmer, Chem. Ztg., Bd. 21, 1897, S. 73.

[7]) Heinzelmann, Zeitschr. f. Spiritusindustrie, Bd. 5, 1882, S. 458.

Die Resultate von Biernacki wurden von K. Yabe[1]) bestätigt und durch Messungen für Brenzkatechin, Hydrochinon und Phloroglucin erweitert.

Die vorstehenden Daten können eine Vorstellung von dem Stand unserer Kenntnisse auf diesem Gebiete geben, wenn sie auch auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen.

Wir gehen nun zur Mitteilung unserer eigenen Ergebnisse über.

Versuchsbedingungen.

Die Gärungsgeschwindigkeit wurde in allen Fällen durch Messung der zu gewissen Zeiten entwickelten Kohlensäuremengen festgestellt. Zur Vergärung kamen bei jedem Versuch 2 g Rohrzucker, gelöst in 20 ccm Wasser. Diese Lösung befand sich in kleinen Erlenmeyerkolben von 50 ccm Inhalt, welche nach Zusatz des Aktivators und von 1 g frischer Hefe mit genau geteilten Gasbüretten durch Kapillarröhren verbunden wurden. Die Erlenmeyerkolben befanden sich in einem Thermostaten, welcher konstant auf einer Temperatur von 30° gehalten wurde.

Tabelle I.

Guajakol	ccm CO_2 während							
g	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	28	68,5	111,5	152	191,5	227	265,5	300
1,0	3,5	3,5	3,6	3,8	3,9	3,9	4	4
0,25	26	55	88	117	144	177	203	228
—	32	74,5	117,5	158	200	237	277	312
0,5	15	30	49	64	84	100	114	129
0,125	30	70,5	115,5	154,5	197,5	232	271,5	302
—	38,5	84	128	174,5	213	253	288	324
0,0625	37	81	128	174,5	215,5	254	290	325
0,0312	41,5	93	138	185	226	269	304	344
—	33	75,5	120	164,5	201,5	238	275	310
0,0156	31	75	121	165	202	241	277	311
0,0078	35	78	124	169	206	247	281	315

[1]) K. Yabe, Chem. Centralbl., Bd. 65 [2], 1894, S. 1048.

Tabelle II.

Resorzin g	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	34	77,5	—	—	209	251	289	326,5
0,5	24	51	—	—	134,5	163	190	217
0,125	35,5	76,5	—	—	206,5	249,5	286	319
—	34,5	75	120	162	201,5	238,5	277	311
0,0625	36	76	118	158	198	233	272	304
0,0312	34	72	117	156,5	198	233	274	307

Tabelle III.

Hydrochinon	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	40	86	130	177	214	253	292	328
0,625	41	91	135	184	220	261	297	333
0,125	43	94	137	182	227	263	297	334

Tabelle IV.

Na-Salicylat g	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	31	69,5	114	152	191	225	—	—
1,1	11	18	23	28	32	37,5	—	—
0,55	16	29	39	50	60	69	—	—
—	35,5	85	132	180	223	264	302	341
0,275	26	52	81	106,5	129	153	177	194
0,137	32	66	105	139	176	206	235	265
—	32,5	75,5	122	164	203	242	279	314
0,0685	32	73	114	153	190	228	264	297
0,034	36	80	127	173	214	258	294	334
—	30	68	110	148	—	—	257	290
0,017	26,5	65	109	151	—	—	264	303
0,008	31	69	112	153	—	—	268	303

Tabelle V.

Na-Azetyl-salizylat g	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	35	77	120	160	201	243	277	210
0,25	—	78	123	164	200	247	280	—
0,50	36	76	122	162	202	246	279	316

Tabelle VI.

Hexa-methylen-tetramin g	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	38	78	124	166	206	244	281	314
0,25	38,5	82	132	177	223	266	304	340
—	33	73	115,5	154	193	226	263	294
0,135	37,5	80	131	178	218	259	300	340

Tabelle VII.

Azetaldehyd	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	37	86	138	187,5	232	276	317	356
0,25	13	24	36	50	64	81	100	116
—	32	67	107	—	179	211	241	272
0,125	23	52	85	—	153	185	218	248
0,05	32	67,5	107	—	180	212	244	276

Tabelle VIII.

Azetanilid	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	34	70,5	114	153	191	229	263	297
Gesättigte Lös.	24,5	47	70	96	118	139,5	159	180

Tabelle IX.

Chininsulfat	ccm CO_2 während							
	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	210 Min.	240 Min.
—	25,5	54,5	85	121	155	189	222	253
Gesättigte Lös.	15,5	20,5	25	27,5	29	31	33	34

Die Ablesungen in den Gasbüretten wurden jede halbe Stunde vorgenommen, nachdem die betreffenden Kolben bei Unterdruck längere Zeit stark geschüttelt worden waren, um eine Übersättigung der Lösung an Kohlensäure zu vermeiden. Zu jedem Versuch wurde ein Kontrollversuch angestellt.

In den vorstehenden Tabellen sind die abgelesenen Kubikzentimeter Kohlensäure verzeichnet, welche unter den gewählten Bedingungen erhalten wurden, und zwar sind stets die Mittelwerte aus zwei innerhalb 1 % übereinstimmenden Versuchen angegeben. Da jeden Tag frische Hefe angewandt wurde, welche wir nach sorgfältigem Waschen in einer Differentialpresse abpreßten, wurden, um von den täglichen Variationen der Hefe unabhängig zu sein, bei jeder Versuchsserie zwei Versuche mit der Hefe ohne Zusatz angestellt. Die Tabellen sind so zusammengestellt, daß deutlich hervorgeht, welche Ablesungen direkt miteinander vergleichbar sind.

Unter den Resultaten, welche sich aus den Tabellen ergeben, sei Folgendes hervorgehoben:

Für drei Substanzen wurden zum ersten Mal vollständigere Reizkurven festgestellt, welche mit einer Aktivierung beginnen und dann in eine Hemmung übergehen. Für Natriumsalizylat wird das Optimum mit einer Konzentration von 0,05 % erreicht, für Guajakol mit einer Konzentration von 0,035 %. Ebenso gering ist die optimale Konzentration von Azetaldehyd, nämlich etwa 0,05 %.

Diese Konzentrationen, in welchen organische Stoffe eine Erhöhung der Gärwirkung hervorbringen, sind immerhin größer als diejenigen, in welchen anorganische Gifte die Gärung begünstigen sollen. Wie nämlich in der Einleitung angegeben ist, liegen die aktivierenden Konzentrationen des Kupfersulfats bei 0,02 % und die des Sublimats bei etwa 0,002 %.

Die untersuchten organischen Protoplasmagifte werden also in höherem Grade von den Hefezellen unschädlich gemacht als die Metallionen, Cu und Hg resp. die Moleküle $HgCl_2$.

Von der in Fig. 1 dargestellten Form der Reizkurven, welche alle dem Liebig-Arndtschen Gesetz entsprechen, kann man sich folgende Vorstellung bilden:

Das Protoplasmagift Guajakol und dergl. wird von den Zellen bis zu einem gewissen Grade resorbiert. Es übt auf das Protoplasma einen störenden Einfluß aus, und der Organismus der Zelle sucht zunächst das eingedrungene Gift unschädlich zu machen. In welcher Weise dies geschieht, ist noch in keinem Fall endgültig festgestellt. Vermutlich wird es durch einen unter normalen Verhältnissen von der Zelle gebildeten Schutzstoff gebunden oder neutralisiert, oder, in anderen Fällen,

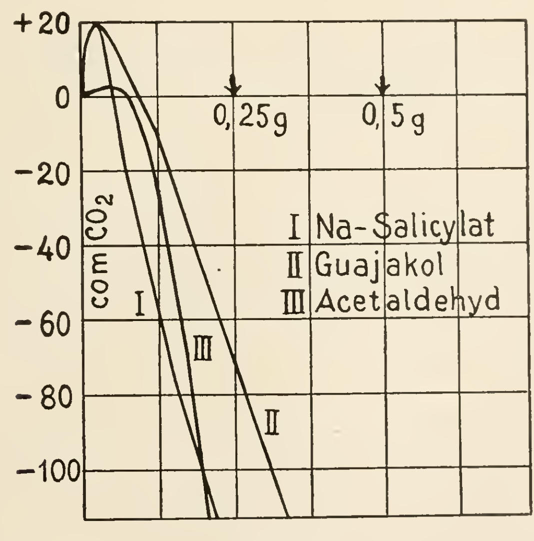


Fig. 1.

durch Verbrennung (Oxydation) unschädlich gemacht. Beim Eindringen von Protoplasmagiften in die Zellen sucht die Zelle zunächst das Gift mit ihren normalen Mitteln zu beseitigen. Tritt mehr Gift in die Zelle ein, als unter normalen Verhältnissen gebunden oder zerstört werden kann, so sucht die Zelle genügende Mengen des neutralisierenden Stoffes oder eines Oxydationskatalysators zu produzieren, und dadurch ihr Plasma unbeschädigt zu erhalten. Mit dieser gesteigerten Produktion von Schutzstoffen oder Oxydationsmitteln ist bis zu einem gewissen Punkt eine allgemeine Steigerung der Lebensprozesse verknüpft. Dringen hingegen noch weitere Giftmengen in die Zelle ein, so kann auch bei erhöhter Lebenstätigkeit das Protoplasmagift nicht

mehr neutralisiert, komplex gebunden oder verbrannt werden und eine Schädigung der Zelle muß die Folge sein.

Demgemäß sind Optimalkonzentrationen wie die oben angegebenen von der absoluten Menge der anwesenden Hefe abhängig und diese muß bei solchen Versuchen stets angegeben werden[1]). Die Hefemenge betrug, wie bereits erwähnt, bei jedem unserer Versuche 1 g.

Unter den übrigen in den obigen Tabellen behandelten Stoffen befindet sich ein Aktivator, welcher erst bei viel größeren Konzentrationen seine Giftwirkung äußert, nämlich Hexamethylentetramin[2]). Dasselbe beschleunigt noch in einer Konzentration von 0,25 % die Hefegärung.

Resorzin und Hydrochinon über eine sehr geringe Wirkung auf lebende Zellen aus. Dieselbe ist für beide Stoffe entsprechend früheren Angaben von Yabe ziemlich gleichartig.

Sehr ausgesprochene Giftwirkung zeigten Azetanilid und Chininsulfat.

---

[1]) Daß die Vergiftungsgrenze von der angewandten Hefemenge abhängt, hat bereits Will festgestellt.

[2]) Hexamethylentetramin ist neuerdings von A. Pollack (D. R. P. 254592) als Zusatz zu gärenden Flüssigkeiten empfohlen worden.

Über die primäre Umwandlung der Hexosen bei der alkoholischen Gärung.

II. Mitteilung.

Von **Hans Euler** und **Einar Hille.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

In zwei vorhergehenden Mitteilungen[1]) wurden die Werte ermittelt, welche sich ergeben, wenn man Glukose durch lebende Hefe vergären läßt und die Menge des verschwundenen Zuckers einerseits aus der prozentischen Abnahme der optischen Drehung, andererseits aus der gleichzeitig entwickelten Kohlensäure berechnet.

Wir nehmen an, daß diese Differenz durch die primäre Umwandlung des Zuckers in ein anderes Kohlehydrat veranlaßt wird. Teilen wir also die Gärung in zwei Reaktionen (wodurch sich die folgende Darstellung vereinfacht), so können wir die Bezeichnungen einführen:

Reaktion I: Glukose = Umwandlungsprodukt,

„ II: Umwandlungsprodukt = $CO_2 + C_2H_5OH$.

Die Differenz Δ—C beruht demnach darauf, daß das Umwandlungsprodukt schneller gebildet als verbraucht wird. Würde es gelingen, die Reaktion I allein vor sich gehen zu lassen, bezw. die Reaktion II zu unterdrücken, so würde man damit eine Überführung des Zuckers in das Umwandlungsprodukt erreichen und damit dessen Isolierung ermöglichen.

Wie Euler und Berggren gefunden haben, wird nun die Differenz Δ—C durch Zusatz von — selbst nicht gärendem — Hefeextrakt um etwa 20 % vergrößert. Wir haben durch die folgenden Versuche ermitteln wollen, in welcher Weise das Verhältnis der Reaktionen I

---

[1]) Euler und D. Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 76, 1912, S. 347; Euler und Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 203.

und II durch den Einfluß von Protoplasmagiften und durch Erwärmen verändert wird.

Versuchsanordnung. Die zu diesen Versuchen angewandte Hefe wurde uns von der hiesigen St. Eriksbrauerei überlassen; sie sei mit HD bezeichnet. Sie wurde im hiesigen Laboratorium gewaschen und abgepreßt. Als vergärender Zucker kam bei allen Versuchen Glukose puriss. von Merck zur Anwendung. Die Temperatur wurde im Ostwaldschen Thermostaten stets auf 30° gehalten.

Im Gegensatz zu der bei der vorhergehenden Untersuchung in Anwendung gekommenen Methodik wurde die entwickelte Kohlensäure stets volumetrisch bestimmt. Die abgelesenen Gasvolumina sind auf 0° und 760 mm Druck reduziert.

Die Drehung der angewandten reinen Glukoselösung wurde in jeder Versuchsreihe gemessen, und der dabei erhaltene Wert wurde zur Berechnung der prozentischen Drehungsänderung benutzt. Zur Ermittelung der prozentischen Kohlensäureentwicklung wurde der theoretische Wert in Rechnung gesetzt, wonach aus 180 g Glukose 88 g Kohlensäure entstehen.

Die Ergebnisse unserer Versuche sind in folgenden Tabellen zusammengestellt, welche in derselben Weise angeordnet sind, wie in der Arbeit von Euler und Berggren[1]). Die Tabellen 1 bis 3 betreffen die Einwirkung von Phenol und von Sublimat. In den drei Versuchsreihen ergab sich das gleiche Resultat. Die Differenz Δ—C verschwindet durch Zusatz des Antiseptikums zur gärenden Lösung fast vollkommen, d. h. das Zwischenprodukt wird ebenso schnell verbraucht als gebildet oder — im Vergleich zu dem Vorgang in reiner Zuckerlösung — wird die Geschwindigkeit der Reaktion I relativ stärker erniedrigt als diejenige der Reaktion II.

Tabelle 1.

50 ccm 20 proz. Glukoselösung 1 g abgepreßte Hefe		Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
			ccm	%	in Graden	%	
Ohne Zusatz	1.	420	472	18,66	10,68 — 7,76 = 2,92	27,30	8,64
	2.	450	432	16,79	10,85 — 8,65 = 2,20	20,27	3,48
2 ccm gesättigte Phenollösung	1.	420	148	5,85	10,27 — 9,64 = 0,63	6,13	0,28
	2.	450	157	6,11	10,43 — 9,76 = 0,67	6,44	0,33

[1]) Euler und Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 203.

Tabelle 2.

20 ccm 10proz. Glukoselösung 1 g abgepreßte Hefe	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
1 ccm Wasser	60	75	15,86	4,92 — 3,78 = 1,17	23,11	7,31
	120	175	36,88	4,92 — 2,66 = 2,26	45,95	9,05
1 ccm 0,005 norm. Sublimatlösung	90	83	17,09	4,92 — 4,07 = 0,85	17,28	0,19
	200	180	37,87	4,92 — 3,08 = 1,84	37,40	— 0,47

Tabelle 3.

20 ccm 10proz. Glukoselösung 1 g abgepreßte Hefe	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
5 ccm Wasser	75	85	17,84	4,14 — 3,04 = 1,10	26,57	8,73
	135	176	37,20	4,14 — 2,30 = 1,84	44,44	7,24
5 ccm 0,005 norm. Sublimatlösung	75	20	4,16	4,14 — 3,90 = 0,24	5,80	1,64
	135	32	6,16	4,14 — 3,78 = 0,36	8,70	1,96

Durch Zusatz derartiger Gifte ist es also bis jetzt nicht gelungen, die Reaktion II aufzuheben und dadurch die Reaktion I einzeln zur Wirkung gelangen zu lassen.

Tabelle 4a.

20 ccm 10prozentige Glukoselösung.
10 ccm Wasser
1 g abgepreßte Hefe } 2 Stunden auf 47° erhitzt.

Zeit in Minuten	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
	ccm	%	in Graden	%	
1. 390	63	12,92	3,54 — 2,84 = 0,70	19,77	6,85
1. 450	78	15,89	3,54 — 2,66 = 0,88	24,86	8,77
2. 435	56	11,29	3,54 — 2,84 = 0,70	19,77	8,48
2. 465	56	11,29	3,54 — 2,82 = 0,72	20,35	9,06

Das gleiche Ziel, die Reaktion II allein zum Stillstand zu bringen und dadurch die Reaktion I gesondert vorsichgehen zu lassen, suchten wir hierauf dadurch zu erreichen, daß die vergärende Hefe durch zweistündiges Erwärmen auf + 47° partiell geschwächt wurde. Es bestand die Möglichkeit, daß die Enzyme der Reaktion II dabei mehr geschädigt würden als die Enzyme der Reaktion I. Aus den Tabellen 4a und 4b

ist zu ersehen, daß dies nicht der Fall ist. Durch das Erwärmen wird zwar die Gärtätigkeit der Hefe auf etwa 1/5 bis 1/10 des ursprünglichen Wertes reduziert, aber die Differenz bleibt etwa die gleiche, d. h. die beiden Reaktionen werden entweder in demselben Maße erniedrigt oder aber Reaktion I in höherem Grade als Reaktion II.

Tabelle 4b.

20 ccm 10prozentige Glukoselösung, 10 ccm Wasser, 1 g abgepreßte Hefe.

Zeit in Minuten		Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
1.	65	80	16,27	3,54 — 2,76 = 0,78	22,03	5,76
	105	101	20,48	3,54 — 2,49 = 1,05	29,66	9,18
2.	60	55	11,10	3,54 — 2,89 = 0,65	18,36	7,26
	90	76	15,50	3,54 — 2,56 = 0,98	27,68	12,16

Tabelle 5a.

20 ccm 10prozentige Glukoselösung, 2 ccm 1/2 normale Ammoniumformiatlösung, 3 ccm Wasser, 1 g abgepreßte Hefe.

Zeit in Minuten		Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
1.	100	171	32,46	4,56 — 2,46 = 2,10	46,05	13,59
	120	228	43,34	4,56 — 2,00 = 2,56	56,14	12,80
	160	309	58,63	4,56 — 1,35 = 3,21	70,40	11,77
2.	70	133	25,14	4,56 — 3,12 = 1,44	31,43	6,29
	100	196	37,09	4,56 — 2,49 = 2,07	45,40	8,31
	130	245	46,55	4,56 — 2,04 = 2,52	55,26	8,71

Tabelle 5b.

20 ccm 10prozentige Glukoselösung, 5 ccm Wasser, 1 g abgepreßte Hefe.

Zeit in Minuten		Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
1.	100	118	22,47	4,56 — 3,10 = 1,46	32,02	9,55
	120	156	29,60	4,56 — 2,65 = 1,91	41,89	12,29
	160	207	39,23	4,56 — 2,28 = 2,28	50,00	10,77
2.	70	93	17,66	4,56 — 3,49 = 1,07	23,46	5,80
	100	132	25,08	4,56 — 3,13 = 1,43	31,38	6,30
	130	152	28,89	4,56 — 2,90 = 1,66	36,40	7,51

Tabelle 5c.

20 ccm 10 proz. Glukoselösung 1 g Hefe	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
5 ccm Wasser	90	110	23,00	4,14 — 2,84 = 1,30	31,40	8,40
	125	149	31,18	4,14 — 2,40 = 1,74	42,03	10,85
	165	212	44,44	4,14 — 1,94 = 2,20	53,14	8,70
2 ccm 0,5 normale Ammoniumformiatlösung + 3 ccm Wasser	90	179	37,40	4,14 — 2,05 = 2,09	50,48	13,08
	125	237	49,51	4,14 — 1,60 = 2,54	61,34	11,83
	165	299	62,57	4,14 — 1,01 = 3,13	75,60	13,03

Es wurde nun versucht, ob nicht die kräftige Aktivierung, welche die alkoholische Gärung durch Alkali- und Ammoniumsalze aliphatischer Säuren erfährt[1]), sich vorzugsweise auf die Reaktion I erstreckt. Unsere Versuche beziehen sich auf Ammoniumformiat, welches eine starke aktivierende Wirkung auf gärende Hefe ausübt. Indessen zeigten sich auch hier, wie die Tabellen 5a bis 5c beweisen, nur unbedeutende Unterschiede in der Größe der beobachteten Differenz Δ—C. Die Versuche der Tabellen 5a bis 5c wurden mit der gleichen Hefe angestellt und zwar wurden zu den Versuchen I der Tabellen 5a und 5b die direkt aus der Würze kommende, gewaschene Hefe verwendet, während die Versuche der Tabelle 5c ausgeführt wurden, nachdem die Hefe drei Tage lang in Berührung mit Eiswasser gewesen war und dadurch sicher den allergrößten Teil ihres Glykogens verloren hatte. Abgesehen von dem Einfluß des Formiatzusatzes erwies sich die untersuchte Differenz Δ—C bei der frischen glykogenhaltigen Hefe ein wenig größer als bei der glykogenarmen. Bei letzterer stieg durch Zusatz des Formiats die Differenz Δ—C in etwas höherem Grade als dies bei der frischen Hefe der Fall war. In dieser Hinsicht sind also miteinander zu vergleichen: die unter 1 angeführten Versuche der Tabellen 5a und 5b und sämtliche Versuche der Tabelle 5c.

Tabelle 6.

50 ccm 20 proz. Glukoselösung 1 g abgepreßte Hefe	Zeit in Min.	Entwickelte CO_2		Drehungsänderung Δ		Diff. Δ—C
		ccm	%	in Graden	%	
Ohne Zusatz	240	237	9,22	10,85 — 9,55 = 1,30	11,98	2,76
	420	384	14,96	10,85 — 8,87 = 1,98	18,25	3,29
+ 2 ccm 0,5 normale Ammon.-Formiatlös.	240	354	13,79	10,43 — 8,46 = 1,97	18,92	5,13
	420	649	23,55	10,43 — 7,48 = 2,95	28,28	4,73

[1]) Euler und Cassel, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 86, 1913, S. 122.

Die vorstehende Tabelle 6 bildet noch insofern eine Bestätigung der vorhergehenden Ergebnisse, als auch hier durch Zusatz von Ammoniumformiat die Differenz Δ—C steigt.

Eine Vergrößerung der Differenz Δ—C wurde in der vorhergehenden Arbeit von Euler und Berggren bei Zusatz von Hefeextrakt bezw. von Co-Enzym (nach der Bezeichnung von Harden und Young) gefunden.

In einer in dieser Zeitschrift erschienenen Notiz[1]) heißt es bei einer Besprechung dieser Arbeit: „In dieser Zeitschrift sprechen Euler und Berggren auch über den Hefeextrakt. Ich möchte nun darauf hinweisen, daß der sog. Hefeextrakt nichts weiter ist, als der nach meiner von den Autoren etwas abgeänderten Methode dargestellte Hefemazerationssaft. Sie verwendeten ihn in abgekochtem Zustand.“

Natürlich ist nichts dagegen einzuwenden, gekochten Hefeextrakt künftig „Mazerationssaft“ zu nennen, wenn auch ein Vorteil der neuen Benennung nicht einzusehen ist. Daß ein solcher gekochter Extrakt von Trockenhefe, mit welchem ja zahlreiche Forscher gearbeitet haben, Co-Enzym enthält, haben Harden und Young[2]) zuerst mitgeteilt und sie haben diese wichtige Tatsache eingehend behandelt[3]).

Die beiden von Euler und Berggren gefundenen neuen Tatsachen sind die folgenden:

1. Durch den Extrakt getrockneter Hefe wird die durch lebende Hefe hervorgerufene Gärung um etwa 100 % beschleunigt.

2. Die bei der alkoholischen Gärung auftretende Differenz zwischen dem Rückgang der optischen Drehung einer gärenden Zuckerlösung und der entwickelten Kohlensäure wird durch Zusatz von Hefenextrakt um etwa 20 % vergrößert.

Die Einwirkung von Co-Enzym auf lebende Hefe ist zum erstenmal von Euler und Berggren studiert worden und speziell über den Einfluß des Co-Enzyms auf die Differenz Δ—C war vorher nicht das Geringste bekannt.

---

[1]) Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. II, 1912, S. 104.

[2]) Harden und Young, Journ. Physiol., Bd. 32, 1905; Proc. Roy. Soc., Bd. 21, 1905.

[3]) Harden und Young, Proc. Roy. Soc., Bd. 77, 78, 1906.

Zur Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten.

II. Teil (Schluß).

Von **Richard Meißner.**

(Arbeiten aus der Kgl. Württembergischen Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg.)

B. Die Ammonium-Chlorid-Reihe.

I. Versuchsreihe.

Die Nährlösung war die Nährlösung B, welche aber statt des Ammonium-Nitrates 5 ‰ Ammoniumchlorid enthielt. Die Kontrolllösungen enthielten folgende Mengen organischer Säuren:

Lösung	1:	4,99 ‰	Weinsäure	Auf Weinsäure berechnet, mit Lackmus als Indikator titriert.
„	2:	5,78 „	Äpfelsäure	
„	3:	6,23 „	Bernsteinsäure	
„	4:	5,14 „	Zitronensäure	
„	5:	6,53 „	Essigsäure	
„	6:	3,83 „	Milchsäure	

Jedes Kölbchen enthielt 60 ccm der betreffenden Nährlösung. Die Kölbchen wurden mit Wattestopfen verschlossen, im strömenden Dampf sterilisiert und dann am 16. März 1908 mit der Platinnadel aus fünf Tage alten Kulturen der Rassen Nr. 1, 3, 4, 5, 8, 15, 16, 21a, 32 und 43 geimpft. Die Beobachtungen des Wachstums der Kahmhefen ergaben folgende Resultate:

auf	am 18. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
Kahmhefe Nr. 1.				
Weinsäure . .	$^3/_4$ äußerst feine Decke	$^3/_4$ äußerst feine Decke mit dichteren Punkten	fast volle äußerst feine Decke	ganz zarte, dünne Decke

auf	am 18. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
Äpfelsäure . .	1/4 äußerst feine Decke	1/4 äußerst feine Decke	1/2 sehr feine Decke	einzelne, gut sichtbare Inseln[1])
Bernsteinsäure	desgl.	fast volle, sehr feine Decke	volle, sehr feine Decke	volle, sehr feine Decke (wenig entwickelt)
Zitronensäure.	1/2 sehr feine Decke	3/4 sehr feine Decke	desgl.	volle, sehr feine Decke (schwach entwickelt)
Essigsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	desgl.	volle Decke, gut entwickelt
Milchsäure. .	1/2 feine Decke, mit dichteren Punkten	fast volle, sehr feine Decke	volle glatte Decke	desgl.

Kahmhefe Nr. 3.

Weinsäure. .	1/4 äußerst feine Decke	1/4 äußerst feine Decke	volle, äußerst feine Decke	ganz zarte, dünne Decke
Äpfelsäure. .	etwas gewachsen	fast volle, sehr feine Decke	volle glatte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Bernsteinsäure	1/8 sehr feine Decke	1/3 sehr feine Decke	desgl.	desgl.
Zitronensäure.	3/4 sehr feine Decke	3/4 sehr feine Decke	volle, sehr feine Decke	volle, feine Decke
Essigsäure . .	fast volle, sehr feine Decke	dicke, gerunzelte Decke	volle, gerunzelte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Milchsäure. .	1/4 sehr feine Decke	volle feine Decke	volle glatte Decke	desgl.

Kahmhefe Nr. 4.

Weinsäure. .	etwas gewachsen	kaum gewachsen	volle, sehr feine Decke	Decke inselförmig
Äpfelsäure. .	desgl.	volle, zart gefaltete Decke	volle Decke	volle Decke, gut entwickelt
Bernsteinsäure	1/10 feine Decke	desgl.	desgl.	desgl.
Zitronensäure.	1/16 feine Decke	desgl.	desgl.	desgl.
Essigsäure . .	etwas gewachsen	1/32 sehr feine Decke	desgl.	desgl.
Milchsäure. .	1/8 feine Decke	volle, zart gefaltete Decke	desgl.	desgl.

[1]) Die Decke ist allmählich zu Boden des Kölbchens bis auf die beobachteten Deckeninseln gesunken.

auf	am 18. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
Kahmhefe Nr. 5.				
Weinsäure . .	kaum gewachsen	kaum gewachsen	wenig gewachsen	sehr schwache Entwicklung
Äpfelsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	desgl.	ganz schwache Entwicklung
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.	desgl.	sehr wenig entwickelt; einzelne Inseln
Zitronensäure .	kaum gewachsen	kaum gewachsen	desgl.	schwache, dünne Decke
Essigsäure . .	etwas gewachsen	desgl.	$^1/_4$ sehr feine Decke	$^1/_4$ Decke, inselförmig
Milchsäure . .	desgl.	Kolonie 1 cm Durchmesser	$^1/_3$ sehr feine Decke	schwach entwickelt, einzelne Inseln
Kahmhefe Nr. 8.				
Weinsäure . .	etwas gewachsen	—	—	sehr schwache Entwicklung
Äpfelsäure . .	$^1/_4$ äußerst feine Decke	—	—	$^3/_4$ ganz zarte Decke
Bernsteinsäure	$^1/_{10}$ sehr feine Decke	—	—	$^1/_2$ schwache Decke
Zitronensäure .	schwach entwickelt	—	—	ganz schwache Entwicklung
Essigsäure . .	desgl.	—	—	schwach entwickelt
Milchsäure . .	$^1/_4$ feine Decke	—	—	$^1/_4$ feine Decke
Kahmhefe Nr. 15.				
Weinsäure . .	kaum gewachsen	kaum gewachsen	fast volle, sehr feine Decke	$^7/_8$ feine Decke
Äpfelsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	volle glatte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.	desgl.	zur Zeit auf der Oberfläche wenig Inseln, aber viel Bodensatz
Zitronensäure .	desgl.	desgl.	fast volle, sehr feine Decke	volle Decke, schwach entwickelt
Essigsäure . .	$^1/_3$ feine Decke	volle gefaltete Decke	volle Decke	volle Decke, gut entwickelt
Milchsäure . .	$^1/_2$ sehr feine Decke	$^1/_2$ sehr feine Decke	volle glatte Decke	desgl.

auf	am 18. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
		Kahmhefe Nr. 16.		
Weinsäure . .	etwas gewachsen	etwas gewachsen	etwas gewachsen	$^1/_2$ Decke, inselförmig
Äpfelsäure . .	desgl.	volle, feine Decke	volle glatte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Bernsteinsäure	$^1/_2$ äußerst feine Decke	$^4/_5$ sehr feine Decke	desgl.	desgl.
Zitronensäure.	fast volle, äußerst feine Decke	fast volle, äußerst feine Decke	volle, sehr feine Decke	volle Decke, schwach entwickelt, inselförmig
Essigsäure . .	etwas gewachsen	volle, gerunzelte Decke	volle, stark gerunzelte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Milchsäure . .	$^1/_8$ sehr feine Decke	volle, gefaltete Decke	volle wenig gefaltete Decke	desgl.
		Kahmhefe Nr. 21a.		
Weinsäure . .	etwas gewachsen	gewachsen	volle, sehr feine Decke	$^3/_4$ Decke, inselförmig[1])
Äpfelsäure . .	desgl.	$^2/_3$ sehr feine Decke	volle glatte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Bernsteinsäure	$^1/_5$ sehr feine Decke	$^1/_2$ sehr feine Decke	volle, sehr feine Decke	desgl.
Zitronensäure.	$^3/_4$ äußerst feine Decke	$^3/_4$ äußerst feine Decke	desgl.	volle feine Decke
Essigsäure . .	$^1/_4$ sehr feine Decke	volle, dick gefaltete Decke	volle, gerunzelte Decke	volle Decke, gut entwickelt
Milchsäure . .	fast volle, sehr feine Decke	volle, sehr zart gefaltete Decke	volle, zart gefaltete Decke	desgl.
		Kahmhefe Nr. 32.		
Weinsäure . .	—	—	—	$^3/_4$ ganz feine Decke
Äpfelsäure . .	—	—	—	$^1/_2$ zarte Decke
Bernsteinsäure	—	—	—	$^1/_2$ schwache Decke
Zitronensäure.	—	—	—	$^1/_8$ schwache Decke
Essigsäure . .	—	—	—	ganz feine, schwach entwickelte Decke
Milchsäure . .	—	—	—	$^3/_4$ mittelstark entwickelte Decke

[1]) Wenn bei späterer Beobachtung weniger Deckenbildung gefunden wird, so hat es seinen Grund darin, daß die Decke in die Flüssigkeit gesunken ist.

auf	am 18. März 1908	am 22. März 1908	am 19. Mai 1908	am 7. Juli 1908
		Kahmhefe Nr. 43.		
Weinsäure	—	—	—	schwach entwickelt
Äpfelsäure	—	—	—	sehr schwache Entwicklung
Bernsteinsäure	—	—	—	desgl.
Zitronensäure	—	—	—	desgl.
Essigsäure	—	—	—	desgl.
Milchsäure	—	—	—	desgl.

2. Versuchsreihe.

Die Kulturen der 1. Versuchsreihe wurden mit Ausnahme der schlecht entwickelten Kulturen in Nährlösungen gleicher Zusammensetzung am 7. Juli 1908, nachmittags 5 Uhr, übergeimpft, und zwar mit der Platinnadel, nur bei schwach entwickelten Kulturen mit der Platinöse. Die Beobachtungen des Wachstums der Kahmhefen ergaben folgende Resultate:

auf	am 11. Juli 1908	am 16. November 1908
	Kahmhefe Nr. 1.	
Weinsäure	nicht gewachsen	etwas gewachsen
Äpfelsäure	desgl.	volle Decke, gute Entwickelung
Bernsteinsäure	sehr wenig gewachsen	desgl.
Zitronensäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Essigsäure	—	volle Decke
Milchsäure	sehr wenig gewachsen	volle Decke, gute Entwickelung
	Kahmhefe Nr. 3.	
Weinsäure	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_2$ feine Decke
Äpfelsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure	$^1/_{32}$ Decke	volle Decke
Zitronensäure	$^1/_{15}$ Decke	$^1/_4$ Decke
Essigsäure	$^1/_8$ Decke	volle Decke
Milchsäure	$^1/_4$ Decke	desgl.
	Kahmhefe Nr. 4.	
Weinsäure	$^3/_4$ Decke	$^1/_2$ Decke
Äpfelsäure	wenig gewachsen	volle Decke
Bernsteinsäure	volle Decke	desgl.
Zitronensäure	$^1/_8$ Decke	desgl.
Essigsäure	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Milchsäure	über $^1/_2$ Decke	volle Decke

auf	am 11. Juli 1908	am 16. November 1908
Kahmhefe Nr. 5.		
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Äpfelsäure	—	—
Bernsteinsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Zitronensäure	nicht gewachsen	desgl.
Essigsäure	desgl.	1/8 Decke
Milchsäure	sehr wenig gewachsen	1/2 Decke
Kahmhefe Nr. 8.		
Weinsäure	nicht gewachsen	sehr wenig gewachsen
Äpfelsäure	desgl.	desgl.
Bernsteinsäure	desgl.	1/32 Decke
Zitronensäure	—	—
Essigsäure	—	—
Milchsäure	nicht gewachsen	1/2 Decke
Kahmhefe Nr. 15.		
Weinsäure	1/2 Decke	3/4 Decke
Äpfelsäure	wenig gewachsen	volle Decke
Bernsteinsäure	3/4 Decke	desgl.
Zitronensäure	1/16 Decke	1/5 Decke
Essigsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure	desgl.	volle Decke
Kahmhefe Nr. 16.		
Weinsäure	über 1/2 ganz feine, dünne Decke	1/2 Decke
Äpfelsäure	1/16 Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	nicht gewachsen	desgl.
Zitronensäure	1/3 Decke	nicht ganz 1/2 Decke
Essigsäure	1/2 ganz feine, dünne Decke	volle Decke
Milchsäure	über 1/2 ganz feine Decke	desgl.
Kahmhefe Nr. 21a.		
Weinsäure	1/4 Decke	1/4 Decke
Äpfelsäure	wenig gewachsen	volle Decke
Bernsteinsäure	7/8 Decke	desgl.
Zitronensäure	1/3 Decke	1/2 Decke
Essigsäure	volle Decke	volle Decke
Milchsäure	1/4 Decke	desgl.
Kahmhefe Nr. 32.		
Weinsäure	nicht gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure	desgl.	1/2 Decke
Zitronensäure	—	—
Essigsäure	nicht gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure	1/32 Decke	1/2 Decke

auf	am 11. Juli 1908	am 16. November 1908
	Kahmhefe Nr. 43.	
Weinsäure	nicht gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	sehr wenig gewachsen	$^1/_4$ Decke
Bernsteinsäure	desgl.	wenig gewachsen
Zitronensäure	—	—
Essigsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure	wenig gewachsen	desgl.

3. Versuchsreihe.

Am 16. November 1908 wurden die Kulturen der 2. Versuchsreihe in frische Nährlösung mit folgenden Säuregehalten übergeimpft:

Lösung 1: 5,18 ‰ Weinsäure		auf Weinsäure berechnet, mit Lackmus als Indikator titriert.
„ 2: 5,78 ‰ Äpfelsäure		
„ 3: 6,30 ‰ Bernsteinsäure		
„ 4: 5,70 ‰ Zitronensäure		
„ 5: 6,60 ‰ Essigsäure		
„ 6: 4,43 ‰ Milchsäure		

Das Überimpfen der Kahmhefen geschah bei genügender Entwickelung der Kulturen der 2. Versuchsreihe mit einer Platinnadel, bei geringer Entwickelung mit einer Platinöse. Die Beobachtungen des Wachstums der Kahmhefen ergaben folgende Resultate:

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
	Kahmhefe 1.	
Weinsäure	—	—
Äpfelsäure	gewachsen in zahlreichen Kolonien	volle Decke
Bernsteinsäure	doppelt erbsengroße Decke	desgl.
Zitronensäure	—	—
Essigsäure	wenig gewachsen	volle Decke
Milchsäure	sehr wenig gewachsen	etwas gewachsen
	Kahmhefe 3.	
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	—	—
Bernsteinsäure	nicht gewachsen	etwas gewachsen
Zitronensäure	$^1/_{32}$ Decke	$^1/_{16}$ Decke
Essigsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure	$^1/_8$ Decke und strahlenförmig vom Boden des Kölbchens an den Glaswandungen empor	volle Decke

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
Kahmhefe 4.		
Weinsäure	nicht gewachsen	etwas gewachsen
Äpfelsäure	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.
Zitronensäure	desgl.	desgl.
Essigsäure	—	—
Milchsäure	volle Decke	volle Decke
Kahmhefe 5.		
Weinsäure	—	—
Äpfelsäure	—	—
Bernsteinsäure	—	—
Zitronensäure	—	—
Essigsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Milchsäure	nicht gewachsen	desgl.
Kahmhefe 8.		
Weinsäure	nicht gewachsen	—
Äpfelsäure		—
Bernsteinsäure		nicht gewachsen
Zitronensäure		—
Essigsäure		—
Milchsäure		etwas gewachsen
Kahmhefe 15.		
Weinsäure	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Äpfelsäure	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	zahlreiche erbsengroße Kolonien	desgl.
Zitronensäure	nicht gewachsen	gewachsen in zahlreichen kleinen Deckeninseln
Essigsäure	—	—
Milchsäure	1/16 Decke	volle Decke
Kahmhefe 16.		
Weinsäure	1/32 Decke	1/16 Decke
Äpfelsäure	sehr wenig gewachsen	gut gewachsen, aber am Boden des Kölbchens
Bernsteinsäure	3/4 Decke	volle Decke
Zitronensäure	1/16 Decke	1/16 Decke
Essigsäure	wenig gewachsen	gut gewachsen, namentlich am Boden des Kölbchens
Milchsäure	volle Decke	volle Decke

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
Kahmhefe 21a.		
Weinsäure	sehr wenig gewachsen .	sehr wenig gewachsen
Äpfelsäure	desgl.	desgl.
Bernsteinsäure . . .	wenig gewachsen	gut gewachsen, aber am Boden des Kölbchens
Zitronensäure . . .	desgl.	gewachsen
Essigsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure	nahezu volle Decke	volle Decke
Kahmhefe 32.		
Weinsäure	—	—
Äpfelsäure	—	—
Bernsteinsäure . . .	sehr wenig gewachsen	gut gewachsen
Zitronensäure . . .	—	—
Essigsäure	—	—
Milchsäure	sehr wenig gewachsen	gewachsen in verschiedenen größeren Kolonien
Kahmhefe 43.		
Weinsäure	—	—
Äpfelsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure . . .	—	—
Zitronensäure . . .	—	—
Essigsäure	—	—
Milchsäure	—	—

Wir sehen demnach, daß die Kahmhefen bei fortgesetzter Kultur auf künstlichen Ammonchlorid-Nährlösungen, besonders auf solchen, die als Quelle organischer Substanz Äpfelsäure, Milchsäure oder Bernsteinsäure enthalten, meist sehr gut wachsen können. Die Zitronensäure wird, wie bei der Ammoniumnitrat-Reihe von Kahmhefe Nr. 4 sehr gut verwertet. Eine mikroskopische Untersuchung der Kahmhefen ergab nach dem Protokoll vom 24. November 1908 die gleichen Resultate, wie bei der Ammoniumnitrat-Reihe.

C. Die Ammoniumphosphat-Reihe.

I. Versuchsreihe.

Zur Verwendung gelangt wieder Nährlösung B, die als Stickstoffquelle 5 ‰ Ammoniumphosphat und als Kohlenstoffquelle folgende Säuren enthielt:

Lösung 1:	4,92 ‰	Weinsäure	auf Weinsäure berechnet, mit Lackmus als Indikator titriert.
„ 2:	5,44 ‰	Äpfelsäure	
„ 3:	6,15 ‰	Bernsteinsäure	
„ 4:	5,96 ‰	Zitronensäure	
„ 5:	6,19 ‰	Essigsäure	
„ 6:	4,80 ‰	Milchsäure	

Je 90 ccm dieser Lösungen, die sich in 200 ccm-Kölbchen befanden, wurden sterilisiert, nachdem die Kölbchen mit Wattestopfen versehen waren, und nach dem Erkalten am 7. Juli 1908 mit Kulturen vom 12. Mai 1908 der Kahmheferassen Nr. 1, 3, 4, 5, 8, 15, 16, 21a, 32 und 43 mit Hilfe einer Platinnadel geimpft. Die Beobachtungen ergaben folgende Resultate:

auf	am 11. Juli 1908	am 25. Juli 1908
	Kahmhefe Nr. 1[1].	
Weinsäure	etwas gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	desgl.	desgl.
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.
Zitronensäure	nicht gewachsen	nicht gewachsen
Essigsäure	etwas gewachsen	gewachsen
Milchsäure	desgl.	wenig gewachsen
	Kahmhefe Nr. 3.	
Weinsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	nahezu volle Decke	volle, glatte Decke
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.
Zitronensäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Essigsäure	volle Decke	volle, etwas gefaltete Decke
Milchsäure	1/2 Decke	volle gefaltete Decke
	Kahmhefe Nr. 4.	
Weinsäure	1/8 Decke	1/4 Decke
Äpfelsäure	gewachsen (Bodensatz)	volle Decke
Bernsteinsäure	wenig gewachsen (Bodensatz)	volle, glatte Decke
Zitronensäure	wenig gewachsen	volle Decke
Essigsäure	1/3 Decke	desgl.
Milchsäure	1/10 Decke	volle, etwas gefaltete Decke

[1]) Wird nicht wieder übergeimpft wegen des geringen Wachstums.

auf	am 11. Juli 1908	am 25. Juli 1908
Kahmhefe Nr. 5 [1]).		
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	etwas gewachsen
Äpfelsäure	desgl.	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Zitronensäure . . .	sehr wenig gewachsen	desgl.
Essigsäure	desgl.	desgl.
Milchsäure	$^1/_{10}$ sehr feine Decke	gewachsen
Kahmhefe Nr. 8 [1]).		
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure	desgl.	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure . .	desgl.	wenig gewachsen
Zitronensäure . . .	desgl.	desgl.
Essigsäure	nicht gewachsen	desgl.
Milchsäure	sehr wenig gewachsen	desgl.
Kahmhefe Nr. 15.		
Weinsäure	wenig gewachsen	$^1/_2$ Decke
Äpfelsäure	desgl.	$^1/_4$ Decke
Bernsteinsäure . .	desgl.	wenig gewachsen
Zitronensäure . . .	desgl.	desgl.
Essigsäure	volle Decke	volle, gefaltete Decke
Milchsäure	$^3/_4$ Decke	desgl.
Kahmhefe Nr. 16.		
Weinsäure	$^1/_8$ Decke	wenig gewachsen
Äpfelsäure	$^1/_2$ dünne Decke	$^3/_4$ Decke
Bernsteinsäure . .	$^1/_3$ dünne Decke	desgl.
Zitronensäure . . .	$^1/_3$ zarte Decke	wenig gewachsen
Essigsäure	nahezu volle Decke	volle, gefaltete Decke
Milchsäure	nahezu volle, dünne Decke	desgl.
Kahmhefe Nr. 21 a.		
Weinsäure	$^1/_3$ Decke	$^1/_3$ Decke
Äpfelsäure	über $^1/_2$ Decke	volle Decke
Bernsteinsäure . .	$^1/_2$ Decke	nahezu volle Decke
Zitronensäure . . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Essigsäure	volle Decke	volle, gefaltete Decke
Milchsäure	desgl.	desgl.

[1]) Wird nicht wieder übergeimpft wegen des geringen Wachstums.

auf	am 11. Juli 1908	am 25. Juli 1908
	Kahmhefe Nr. 32 [1].	
Weinsäure . . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Äpfelsäure . . .	desgl.	desgl.
Bernsteinsäure . .	desgl.	desgl.
Zitronensäure . .	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Essigsäure	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Milchsäure	desgl.	desgl.
	Kahmhefe Nr. 43 [1].	
Weinsäure	$^1/_4$ Decke	$^1/_8$ Decke
Äpfelsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Bernsteinsäure . .	desgl.	desgl.
Zitronensäure . . .	wenig gewachsen	wenig gewachsen
Essigsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Milchsäure	desgl.	wenig gewachsen

2. Versuchsreihe.

Am 25. Juli 1908 wurden die Kulturen der Kahmhefen Nr. 3, 4, 15, 16 und 21a, welche in der ersten Versuchsreihe gut gewachsen waren, in frische sterile Nährlösungen derselben Zusammensetzung wie vorher übergeimpft. Am 26. November 1908 wurde das Wachstum der Kahmhefen kontrolliert und es zeigten sich dabei folgende Ergebnisse:

Kahmheferasse	auf Weinsäure	auf Äpfelsäure	auf Bernsteinsäure	auf Zitronensäure	auf Essigsäure	auf Milchsäure
Nr. 3	$^1/_6$ Decke	volle Decke	volle Decke	$^1/_4$ Decke	volle Decke	volle Decke
Nr. 4	$^1/_8$ Decke	desgl.	desgl.	volle Decke	desgl.	desgl.
Nr. 15	$^1/_6$ Decke	desgl.	desgl.	$^1/_5$ Decke	desgl.	desgl.
Nr. 16	$^1/_4$ Decke	desgl.	desgl.	$^1/_{10}$ Decke	desgl.	desgl.
Nr. 21a	nahezu volle Decke	desgl.	desgl.	etwa $^1/_2$ Decke	desgl.	desgl.

3. Versuchsreihe.

Am 16. November 1908 wurden die Kulturen der zweiten Versuchsreihe mittels einer Platinnadel in frische Nährlösungen (Nährlösung B mit Ammoniumphosphat) übergeimpft, die folgende Säuregehalte aufwiesen:

[1]) Wird nicht wieder übergeimpft wegen des geringen Wachstums.

Lösung 1:	5,63 ‰ Weinsäure	auf Weinsäure berechnet, mit Lackmus als Indikator titriert.
„ 2:	6,38 „ Äpfelsäure	
„ 3:	6,83 „ Bernsteinsäure	
„ 4:	5,70 „ Zitronensäure	
„ 5:	6,83 „ Essigsäure	
„ 6:	5,18 „ Milchsäure	

Die Beobachtungen des Wachstums der Kahmhefen ergaben folgende Resultate:

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
	Kahmhefe 3.	
Weinsäure	wenig gewachsen	gut gewachsen
Äpfelsäure	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	wenig gewachsen	gut gewachsen, größere Kolonien
Zitronensäure	desgl.	gut gewachsen
Essigsäure	desgl.	volle Decke
Milchsäure	$^3/_4$ Decke	desgl.
	Kahmhefe 4.	
Weinsäure	sehr wenig gewachsen	Zahlreiche, sehr kleine Deckenkolonien
Äpfelsäure	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	desgl.	desgl.
Zitronensäure	desgl.	desgl.
Essigsäure	wenig gewachsen	desgl.
Milchsäure	volle Decke	desgl.
	Kahmhefe 15.	
Weinsäure	nicht gewachsen	sehr wenig gewachsen
Äpfelsäure	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	sehr wenig gewachsen	sehr wenig gewachsen
Zitronensäure	desgl.	desgl.
Essigsäure	desgl.	gut gewachsen (Bodensatz)
Milchsäure	wenig gewachsen	volle Decke
	Kahmhefe 16.	
Weinsäure	10 kleine Kolonien gewachsen	$^1/_{32}$ Decke
Äpfelsäure	$^4/_5$ Decke	volle Decke
Bernsteinsäure	volle Decke	desgl.
Zitronensäure	40 kleine Kolonien gewachsen	$^1/_{16}$ Decke
Essigsäure	wenig gewachsen	gut gewachsen, aber nur am Boden des Kölbchens
Milchsäure	volle Decke	volle Decke

auf	am 24. November 1908	am 16. Dezember 1908
	Kahmhefe 21a.	
Weinsäure	zahlreiche einzelne Deckenkolonien	Zahlreiche Kolonien, die etwa $^1/_8$ Oberfläche der Nährlösung bedecken
Äpfelsäure	volle Decke	volle Decke
Bernsteinsäure . . .	desgl.	desgl.
Zitronensäure . . .	wenig gewachsen	6 Kolonien von Erbsengröße
Essigsäure	volle Decke	volle Decke
Milchsäure	desgl.	desgl.

Trotz mehrfachen Überimpfens derjenigen Kulturen, die auf künstlicher Nährlösung gewachsen sind, auf frische künstliche sterile Nährlösung derselben oder ähnlicher Zusammensetzung können also die Kahmhefen auf diesen gut wachsen, ob nun Ammoniumphosphat oder Ammoniumchlorid oder Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle in den Nährflüssigkeiten vorhanden ist. Die organischen Säuren werden durch die Lebenstätigkeit dieser Organismen in geringerem oder größerem Maße zerstört und auch zum Aufbau neuer Zellen verwendet.

Zusammenfassung.

Die gewonnenen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen lassen sich kurz dahin zusammenfassen:

1. Einige Rassen der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten wachsen auf künstlichen Nährlösungen, welche als alleinige Quelle kohlenstoffhaltiger Substanz organische Säuren (Äpfel-, Bernstein-, Milch-, Essig-, Zitronen- oder Weinsäure) je getrennt enthalten, recht gut, andere Rassen zeigen dagegen ein geringeres Wachstum. Eine Rasse kann meist auf mehreren organischen Säuren gleich gut oder gleich schlecht wachsen.

2. Im allgemeinen wachsen die Kahmhefen auf Weinsäure-Nährlösungen verschiedenster Konzentration nur schlecht. Etwas besser ist das Wachstum dieser Organismen auf Zitronensäure-Nährlösung; nur Willia anomala zeigte auf letzterer Lösung ein recht gutes Wachstum. Am günstigsten war für das Wachstum der Kahmhefen die Milchsäure-Nährlösung, dann die Bernstein- und Äpfelsäurelösung, für manche Rassen selbst die Essigsäure-Nährlösung in einer bestimmten Konzentration.

3. Eine Kahmheferasse kann infolge ihres verschiedenen Wachstums auf den Nährlösungen die verschiedenen organischen Säuren in verschiedenem Grade verbrauchen, da mit dem stärkeren oder geringeren Wachstum dieser Organismen ein stärkerer oder geringerer Verbrauch der Säuren Hand in Hand geht.

4. Bei der Kombination zweier organischer Säuren in der Nährflüssigkeit übten die Wein- und Zitronensäure einen hemmenden Einfluß auf die Vermehrungsgeschwindigkeit mancher Kahmheferassen aus.

5. Wird eine Säure, auf der die Kahmhefen schlecht wachsen, mit einer Säure in der Nährlösung kombiniert, auf der sie gutes Wachstum zeigen, so verzehren die Kahmhefen die für ihr Wachstum günstige Säure und lassen die für sie ungünstige Säure in der Nährlösung zurück.

6. Bei der Kombination zweier Säuren, auf denen die Kahmhefen gut wachsen, tritt in den meisten Fällen eine Erhöhung des Kahmhefewachstums und ein vollständiger Verbrauch der beiden dargebotenen organischen Säuren ein. Die verschiedenen organischen Säuren sind entweder Substanzen, die in konzentrierterer Form ein besseres Wachstum der Kahmhefen bedingen als in weniger konzentrierter, oder es kann auch dieselbe organische Säure in konzentrierterer Form auf das Wachstum der verschiedenen Kahmhefen bald hemmend, bald neutral wirken.

7. Die Bedeutung der sechs untersuchten organischen Säuren für die Kahmhefen selbst liegt darin, daß diese Säuren von den verschiedenen Kahmheferassen in ihre Lebensprozesse (Ernährung, Wachstum, Atmung, Vermehrung) hineingezogen, dabei zerstört und in andere chemische Verbindungen umgewandelt werden.

8. Dasselbe gilt für andere organische Bestandteile des Mostes und Weines, wie für Trauben- und Rohrzucker, Alkohol und Glyzerin.

9. Als Stickstoffquelle erwies sich das salpetersaure Ammonium bei Gegenwart gewisser organischer Säuren für bestimmte Kahmheferassen als eine schlechtere als das phosphorsaure Ammonium. Aber sowohl das Ammoniumphosphat und Ammoniumnitrat, als auch das Ammoniumchlorid sind gute Stickstoffquellen für das Leben der Kahmhefen. Weinsaures Ammonium und Asparagin sind im allgemeinen schlechte Stickstoffquellen für diese Organismen. Das Asparagin wurde nur von Willia anomala gut verarbeitet.

10. Bei mehrfacher Überimpfung derjenigen Kahmhefen, die auf künstlicher Nährlösung gewachsen waren, auf frische, künstliche sterile Nährlösung derselben oder ähnlicher Zusammensetzung können die Kahmhefen gleich gut wachsen, ob nun Ammoniumphosphat oder Ammoniumnitrat oder Ammoniumchlorid in den Nährlösungen vorhanden ist. Die organischen Säuren werden dabei jedesmal durch die Lebenstätigkeit der Kahmhefen in geringerem oder größerem Grade zerstört und werden u. a. zum Aufbau neuer Zellen verwendet.

In der vorliegenden Abhandlung wurden besonders die Wachstums-Verhältnisse einiger Kahmheferassen auf säurehaltigen künstlichen Nährlösungen erörtert, um hierdurch das Wesen der Säureverminderung des Mostes und Weines durch die Kahmhefen und die Bedeutung der organischen Säuren für das Leben derselben aufzufinden. Aufgabe weiterer Untersuchungen wird es sein müssen, die Zersetzungsprodukte der organischen Säuren durch die Kahmhefen und die kahmhautbildenden Saccharomyceten kennen zu lernen.

Milchsäure in eingesäuertem Mais.

Von **Arthur W. Dox** und **Ray E. Neidig.**

(Aus der chemischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation zu Iowa.)

In einer vorigen Mitteilung[1]) wurde über das Studium der flüchtigen Fettsäuren in eingesäuertem Mais ausführlich berichtet. Es wurde gezeigt, daß Essigsäure und Propionsäure in beträchtlichen Mengen vorhanden sind, während die höheren Glieder der Reihe, wie Buttersäure, widerwärtige Eigenschaften zu verleihen scheinen und deren Gegenwart als Beweis beginnenden Verderbens anzunehmen sei. Die gesamte flüchtige Säure, welche durch Destillation gewonnen wurde, erklärte jedoch in keinem Falle die Gegenwart aller Säure, welche sich bei der direkten Titrierung des ursprünglichen Sauermaissaftes vorfand. Die Differenz repräsentiert daher nichtflüchtige Säure, welche bisher als vornehmlich aus Milchsäure bestehend angesehen wurde. Da die nichtflüchtige Säure, nach der indirekten Methode bestimmt, in den meisten von unseren Proben im Übermaß zu der flüchtigen Säure gegenwärtig war, so hielten wir es für wohl gerechtfertigt, hierüber weitere Studien anzustellen.

Nach den Resultaten anderer Forscher ist das Verhältnis der nichtflüchtigen zu der flüchtigen Säure keineswegs gleichbleibend. Da nun eingesäuertes Mais unter verschiedenen Bedingungen und aus Mais in verschiedenem Grade der Reife zubereitet wird, so ist es nicht zu verwundern, daß Variationen in der chemischen Zusammensetzung vorkommen. Es wird aber allgemein zugegeben, daß normalerweise die vorhandene nichtflüchtige Säure im Übermaß zu der flüchtigen Säure steht. Alle die bisher gesammelten Ergebnisse in bezug auf nichtflüchtige Säure in eingesäuertem Mais, obgleich als Milchsäure berechnet, gründen sich auf den Unterschied der Titrierungszahlen vor und nach

[1]) Iowa Agricultural Experiment Station, Research Bulletin, Nr. 7.

der Destillation der Probe mit Dampf. Um festzustellen, wie viel von diesem Gehalt an nichtflüchtiger Säure wirklich von Milchsäure herrührt, sind weit zuverlässigere Methoden nötig. Solche Methoden sind aber unseres Wissens bisher für die Bestimmung von Milchsäure in eingesäuertem Mais noch nicht angewendet worden.

Für die quantitative Bestimmung von Milchsäure sind verschiedene Methoden vorgeschlagen worden. Die Methode von Palm[1]) gründet sich auf die Unlöslichkeit des basischen Bleisalzes in Alkohol. In der Methode von Partheil[2]) wird die Flüchtigkeit der Milchsäure in überhitztem Dampf vorteilhaft benutzt. Die Zinklaktat-Methode[3]) erfordert die Isolierung dieses Salzes und die direkte Abwägung desselben. Diese drei Methoden sind von Suzuki und Hart[4]) miteinander verglichen und die letztgenannte als die befriedigendste erklärt worden. Eine Anzahl indirekter Methoden sind vorgeschlagen worden, in welchen Milchsäure entweder zu Azetaldehyd oder zu Oxalsäure oxydiert und das Oxydationsprodukt bestimmt wird. In unserer Arbeit wurde durchweg von der Zinklaktat-Methode Gebrauch gemacht. Dieselbe ist einfach und direkt, da sie nur die Ausscheidung der Säure vermittels Äthers und die Darstellung und Kristallisation des Zinksalzes verlangt. Das hierdurch gewonnene Zinksalz kann sodann für optische Studien verwendet werden.

Mögliche Quellen der Milchsäure.

1. Milchsäure kann aus Aminosäuren entstehen durch Austausch der primären Amingruppe gegen Hydroxyl im Alanin, und durch diese Reaktion und gleichzeitige Reduktion des Kohlenstoffatoms im Cystin und Serin. Ehrlich und Jacobsen[5]) haben nachgewiesen, daß drei Derivate von Alanin, nämlich Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan durch die Wirkung von Mikroorganismen in die entsprechenden Derivate der Milchsäure, nämlich p-Oxyphenylmilchsäure, Phenylmilchsäure und Indolmilchsäure verwandelt werden. Da nun aber die Aminosäuren, welche durch die Spaltung von Proteinen entstehen, optisch aktiv sind, so würden auch die davon abgeleiteten Milchsäuren optische Aktivität aufweisen.

---

[1]) Palm, Zeitschr. f. Anal. Chem. Bd. 22, S. 223.

[2]) Partheil, Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genußm., Bd. 5, S. 1056.

[3]) Buchner u. Meisenheimer, Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. 37, S. 417.

[4]) Suzuki und Hart, Journ. Am. Chem. Soc., Bd. 31, S. 1364.

[5]) Ehrlich und Jacobsen, Berichte d. D. chem. Ges., Bd. 44, S. 888.

2. Bakterien, welche lösliche Kohlenhydrate in Milchsäure vergären, sind sehr zahlreich und in der Natur weit verbreitet. Esten und Mason[1]) haben diese Organismen in enormer Anzahl in eingesäuertem Mais gefunden, und es würde erscheinen, daß die Tätigkeit dieser Milchsäurebakterien unabhängig, obwohl gleichzeitig mit der Bildung von flüchtigen Säuren durch andere Organismen vor sich geht. Reinkulturen erzeugen oft optisch aktive Milchsäuren, obwohl die Gärung nach zufälliger Impfung fast immer in einer razemischen Mischung resultiert. Dies wird später besprochen werden.

Milchsäure kommt auch in kleinen Mengen vor als das Produkt von alkoholischer Gärung mit Hefe[2]) und intramolekularer Atmung[3]) von grünen Pflanzen unter aseptischen Kautelen bei Luftabschluß. Die dadurch erhaltene Menge ist jedoch geringfügig. Bakterielle Gärung ist notwendigerweise die eigentliche Ursache für die große Menge von Milchsäure, welche in eingesäuertem Mais vorkommt.

Optische Formen der Milchsäure.

Da die Gärungsmilchsäure ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält, sind zwei optische Enantiomorphen möglich, eine rechts- und eine linksdrehende Form sowohl, als auch eine optisch inaktive oder razemische Mischung der beiden. Die rechtsdrehende Säure ist diejenige, welche ohne Ausnahme erhalten wird, wenn tierische Gewebe der Autolyse[4]) unterworfen werden. Gewöhnliche Milchsäuregärung von Kohlenhydraten wo keine Vorsichtsmaßregeln beobachtet werden, um Reinkulturen zu bewahren, gibt gewöhnlich die razemische Mischung. Andererseits sind viele Organismen bekannt, welche in Reinkultur eine einzige der optischen Formen produzieren; die Drehung ist in diesem Falle abhängig von den Organismen. In der Tat wird, nach McKenzie[5]), die razemische Mischung nie durch individuelle Arten produziert, sondern durch getrennte Arten, die die zwei entgegengesetzten Formen erzeugen, welche in gleichen Proportionen vorkommen können und in dieser Weise die inaktive Mischung bilden. Heinemann[6]) hält dafür, daß die Temperatur, bei welcher die Gärung stattfindet, die Aktivität der resultie-

[1]) Esten und Mason, Storrs. Agr. Exp. Stat. Bull., Nr. 70.

[2]) Mestrezat, Journ. Soc. Chem. Ind., Bd. 28, S. 734.

[3]) Stoklasa, Ernest und Chocensky, Zeitschr. physiol Chem., Bd. 50, S. 303.

[4]) Vergl. Saiki, Journ. Biol. Chem., Bd. 7, S. 17; Mochizuki und Arima, Zeitschr. physiol. Chem., Bd. 49, S. 109; Saito und Yoshikawa, Ebenda, Bd. 62, S. 107.

[5]) McKenzie, Journ. Chem. Soc., Bd. 87—88, S. 373.

[6]) Heinemann, Journ. Biol. Chem., Bd. 2, S. 603.

renden Säure einigermaßen bestimmt. Neuere Untersuchungen von Currie[1]) haben jedoch gezeigt, daß Reinkulturen in einzelnen Fällen inaktive Milchsäure produzieren können.

Versuche.

Unsere Versuche wurden mit der Absicht angestellt, den Milchsäuregehalt in typischen Proben von eingesäuertem Mais zu bestimmen, auch die optischen Formen, in welchen diese Säure vorkommt, und fernerhin festzustellen, ob die Art des Silo irgend welchen Einfluß auf die Menge und Beschaffenheit der Milchsäure ausübt.

Die Rückstände von unseren früheren Versuchen mit den flüchtigen Fettsäuren erwiesen sich als ein ausgezeichnetes Material für eine solche Untersuchung. Diese Proben wurden zu verschiedenen Zeiten und von verschiedenen Lagen aus drei verschiedenartigen Silos genommen. Die Silos sind aus Holz, hohlen Tonziegeln (hollow clay tile) und Backsteinen konstruiert, und sind in unserer früheren Mitteilung[2]) beschrieben. Die von den flüchtigen Säuren durch Dampfdestillation befreiten Rückstände wurden auf ein kleines Volumen eingedampft, mit Schwefelsäure versetzt und mit Äther zweiundsiebzig Stunden lang in einem Bremerschen Apparat extrahiert. Nach Entfernung des Äthers wurde der Auszug mit Wasser verdünnt und mit einem Überschusse von Baryumhydrat gekocht, dann auf bekannte Weise mit Schwefelsäure neutralisiert. Das Baryumsulfat wurde abfiltriert, und das Filtrat mit Zinksulfat in der gerade genügenden Menge behandelt. Die Lösung wurde wieder vom Baryumsulfat befreit und zu einem kleinen Volumen auf dem Wasserbad eingedampft. Sobald sich die Kristalle von milchsaurem Zink zu bilden anfingen, wurde die Lösung in einen Brutschrank bei 45° gestellt. Die Kristalle wurden durch einen Goochschen Tiegel filtriert, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und bei 100° getrocknet. Das gesamte Spülwasser und die Mutterlauge wurden einer zweiten und dritten Kristallisation unterworfen und die Kristalle wie zuvor behandelt. Die Gewichte der drei Kristallernten wurden sodann zueinander gefügt und die Summe als die gesamte Ausbeute von wasserfreiem Zinklaktat aus der Probe angesehen.

Tabelle 1 gibt die Daten in Beziehung auf die fünf Proben, welche aus jedem der drei Silos genommen wurden. In Tabelle 2 sind die

---

[1]) Currie, Journ. Biol. Chem., Bd. 10, S. 201. Die ziemlich ausführliche Literatur ist hier besprochen.

[2]) A. a. O.

Zahlen für das milchsaure Zink in freie Milchsäure umgerechnet, entsprechend 100 g trockenem eingesäuerten Mais. Für Vergleichszwecke ist auch die flüchtige Säure in dieser Tabelle und deren Verhältnis zu der flüchtigen Säure für jeden Silo angegeben worden.

Jede der nach obiger Beschreibung erhaltenen Proben des Zinklaktats wurde auf ihre optische Aktivität untersucht. In jedem Falle gab eine 1 % Lösung in einer 2 dcm-Röhre mit dem Polarisationsapparat eine Ablesung von Null. Unser Apparat konnte bis zum zwanzigsten Teil eines Grades der Ventzske-Skala abgelesen werden, und da die spezifische Drehung des aktiven Zinklaktats $\pm$ 7.5° ist, so muß der Fehler weniger als 10 % gewesen sein. Anders gesagt, das untersuchte milchsaure Zink muß mindestens zu 90 % inaktiv gewesen sein. Die Proben von Zinklaktat in den Tabellen 3 und 4 wurden in 4 %iger Lösung untersucht und gaben doch noch eine Ablesung von Null, daher müssen sie mindestens 97,5 % inaktives Salz enthalten haben.

Tabelle 1.

Probe-Nr.	Datum	Tiefe von der Oberfläche m	Wasser %	Flüchtige Säuren in 100 g Saft ccm decinormal	Wasserfreies Zinklaktat aus 100 g Saft g
Holzsilo.					
1	8. 1. 12	0,610	65,44	149	1,197
2	5. 2. 12	2,440	71,68	192	1,949
3	4. 3. 12	4,270	67,28	174,2	2,005
4	1. 4. 12	5,490	69,32	281	1,633
5	29. 4. 12	7,320	70,28	208,8	2,305
Backsteinsilo.					
1	17. 11. 11	0,610	69,56	122	0,581
2	1. 12. 11	2,440	62,96	113	2,289
3	15. 12. 11	3,660	68,72	128	2,335
4	29. 12. 11	5,490	71,56	145	2,161
5	12. 1. 12	6,710	78,72	241,5	0,779
Hohlziegelsilo (Hollow clay tile silo).					
1	14. 11. 11	0,610	59,6	138,6	1,964
2	12. 12. 11	2,440	59,8	158	1,048
3	9. 1. 12	4,270	56,6	134	1,331
4	6. 2. 12	5,490	59,36	133,5	2,220
5	5. 3. 12	6,710	59,32	126,2	1,839

Tabelle 2.

Probe-Nr.	Zinklaktat aus 100 g Saft g	Milchsäure in 100 g trockenem Sauermais g	Flüchtige Säuren in 100 g trockenem Sauermais g
		Holzsilo.	
1	1,197	1,68	1,73
2	1,949	3,65	2,53
3	2,005	3,05	1,94
4	1,633	2,73	3,49
5	2,305	4,03	2,60
Durchschnittliches Verhältnis von Milchsäure zu den flüchtigen Säuren 1,0 zu 0,81.			
		Backsteinsilo.	
1	0,581	0,98	1,63
2	2,289	2,88	1,17
3	2,335	3,79	1,52
4	2,161	4,02	2,02
5	0,779	2,13	5,11
Durchschnittliches Verhältnis von Milchsäure zu den flüchtigen Säuren 1,0 zu 0,83.			
		Hohlziegelsilo.	
1	1,964	2,15	1,17
2	1,048	1,15	1,35
3	1,331	1,28	0,96
4	2,220	2,40	0,96
5	1,839	1,98	0,98
Durchschnittliches Verhältnis von Milchsäure zu den flüchtigen Säuren 1,0 zu 0,61.			

Durchschnittliches Verhältnis von Milchsäure zu den flüchtigen Säuren aller Proben 1,0 zu 0,75.

Eine aus den verschiedenen Exemplaren des Zinklaktates von den Bestimmungen in den Tabellen 1 und 2 zusammengesetzte Probe wurde umkristallisiert und das enthaltene Kristallwasser festgestellt.

2 g Kristalle gaben 0,3622 g Wasser.

Berechnet für Zinklaktat:

	Aktiv	Inaktiv	gefunden
Wasser	12,89	18,18	18,11

Dies ist ein weiterer Beweis dafür, daß das Zinksalz aus eingesäuertem Mais inaktiv war, es wäre denn, daß die Aktivität der verschiedenen Proben in entgegengesetzten Richtungen im gleichen Verhältnis war, was natürlich höchst unwahrscheinlich ist. Wir fühlen uns berechtigt, die Behauptung aufzustellen, daß die Proben des untersuchten milchsauren Zinks alle inaktiv waren.

Die gebildeten Milchsäuremengen.

Da nun die Menge und die optische Form der Milchsäure bekannt war, welche in diesen Proben von Sauermais vorkommt, blieb uns nur noch übrig, den Gang der Bildung zu studieren. Zu diesem Zwecke wurden Versuche mit zwei Silos, dem hölzernen und dem Hohlziegelsilo, für noch eine Saison geplant. Es war aber nötig Proben in häufigen Zwischenräumen zu nehmen, während die Gärung vor sich ging. Esten und Mason[1]) haben gezeigt, daß die Gärung nach der Füllung des Silos sehr schnell eintritt, und daß die Veränderungen praktisch vollständig sind nach Verlauf von zwei Wochen. Wir beschlossen daher täglich eine Probe zu untersuchen, bis die Gärung zum Stillstand gekommen wäre.

Bei dem Probenehmen lag die Schwierigkeit darin, genug Material zu erhalten, um eine genügende Probe in jedem Falle der Untersuchung zuzuführen und um zu gleicher Zeit Luftzutritt und die nachfolgende aërobe Gärung des angrenzenden Sauermaises zu verhüten. Vorversuche überzeugten uns, daß es zweckmäßig sei, Proben vermittels eines Erdbohrers durch ein 5 cm Loch in der Silotür zu erhalten. Sofort nach der Probeentnahme wurde das Loch durch einen hölzernen Pflock geschlossen. Die in dieser Weise erhaltenen Proben repräsentieren Material von der äußersten Schicht bis zur Mitte des Silos. Diese wurden alle in einer Tiefe von 2,4 bis 3,6 Meter oberhalb des Bodens genommen.

Da die Analysen nicht täglich ausgeführt werden konnten, so war es notwendig die Proben aufzubewahren, bis alle gesammelt waren. Um nun parallele Bestimmungen der flüchtigen Säuren zu machen, mußten diese Proben vor Verdunstung geschützt werden. Sterilisation in einem offenen Gefäß war daher nicht ausführbar und der Gebrauch von antiseptischen Stoffen war aus anderen Gründen nicht ratsam. Es wurde schließlich auf folgende Weise verfahren: Die sofort mit Hilfe der Buchnerschen Presse erhaltenen Saftproben wurden in Druckflaschen gebracht und in einem Autoklav sterilisiert, sodann beiseite gestellt, bis eine genügende Anzahl gesammelt war. In der Analyse wurden die flüchtigen Säuren unter vermindertem Druck beseitigt und der Rückstand wie in unseren vorhergegangenen Bestimmungen behandelt. Sterilisation und Destillation verwandelte keine aktive Milchsäure, die möglicherweise vorhanden war, in razemische Mischung, wie wir später beweisen werden.

[1]) Esten und Mason, a. a. O.

Tabelle 3. Der Holzsilo.

Probe-Nr.	Datum	Wasser-gehalt	Zinklaktat aus 100 g Saft	Milchsäure 100 g trockenem Sauermais entsprechend	Flüchtige Säuren 100 g trockenem Sauermais entsprechend
1	23. 9. 12	76,3	—	—	—
2	24. 9. 12	73,0	—	—	—
3	25. 9. 12	67,6	1,023	1,58	0,923
4	26. 9. 12	65,1	1,181	1,64	1,031
5	27. 9. 12	66,0	0,866	1,24	1,080
6	28. 9. 12	64,7	0,874	1,20	1,061
7	29. 9. 12	66,5	1,041	1,53	1,205
8	30. 9. 12	67,6	1,362	2,10	1,445
9	1. 10. 12	67,5	0,768	1,18	1,327
10	2. 10. 12	65,3	1,659	2,31	1,507
11	3. 10. 12	68,3	1,333	2,12	1,232
12	4. 10. 12	67,2	1,355	2,05	1,289
13	10. 10. 12	65,6	2,187	3,08	1,240
14	16. 10. 12	65,2	2,026	2,81	1,248

Tabelle 4. Der Hohlziegelsilo.

Probe-Nr.	Datum	Wasser-gehalt	Zinklaktat aus 100 g Saft	Milchsäure 100 g trockenem Sauermais entsprechend	Flüchtige Säuren 100 g trockenem Sauermais entsprechend
1	27. 9. 12	64,3	0,223	0,30	0,056 [1])
2	28. 9. 12	62,0	0,388	0,47	0,176 [1])
3	29. 9. 12	65,5	0,303	0,43	0,223 [1])
4	30. 9. 12	64,0	0,463	0,61	0,285
5	1. 10. 12	57,9	0,391	0,40	0,410 [1])
6	2. 10. 12	63,1	0,736	0,93	0,648
7	3. 10. 12	61,2	0,769	0,90	0,595
8	4. 10. 12	58,8	1,081	1,14	0,634
9	5. 10. 12	60,9	0,873	1,01	0,719 [1])
10	7. 10. 12	63,4	1,245	1,60	0,767 [1])
11	9. 10. 12	63,2	1,498	1,90	0,913 [1])
12	16. 10. 12	58,5	1,812	1,89	0,786

[1]) Als Essigsäure berechnet.

Der Holzsilo.

Die Füllung des Silos wurde am Morgen des 23. September begonnen. Die Körner des Maises waren ziemlich gekerbt, und die Maisstiele ein wenig grün in ihrem Aussehen. Die erste Probe repräsentiert Saft, welcher aus dem frischen Mais gepreßt war, wie derselbe von der Schneidemaschine kam. Titriert mit dezinormalem Baryumhydrat, waren 1,6 ccm Alkali nötig, um 10 ccm des Saftes zu neutralisieren. Die Säuremenge war so gering, daß kein Versuch gemacht wurde, die flüchtige und Milchsäure separat zu bestimmen. Die zweite Probe wurde ungefähr 12 Stunden später genommen. 10 ccm des Saftes erforderten 5,6 ccm Alkali zur Neutralisation. Separate Bestimmungen wurden auch aus den früher erwähnten Gründen unterlassen. Die analytischen Bestimmungen begannen mit der dritten Probe, welche 36 Stunden nach der Füllung des Silo genommen wurde. Es wurden nun täglich Probeentnahmen ausgeführt, bis die gesamte Azidität praktisch ein Maximum erreicht hatte.

Der Hohlziegelsilo.

Dieser Silo wurde am 27. September gefüllt. Der Mais war einigermaßen näher der Reife, als im Falle des hölzernen Silos. Eine beträchtliche Menge dieses Maises war zwei oder drei Tage vor der Einsäuerung geschnitten worden. Dies ist wahrscheinlich die Ursache für den niedrigeren beobachteten Wassergehalt. Die erste Probe repräsentiert daher nicht die frische Pflanze, sondern vielmehr das Material beim Beginne der Einsäuerung. In den ersten drei Proben stellt die flüchtige Säure einfach die Azidität des Vierliterdestillats dar, welche als Essigsäure berechnet wurde. Die Bildung der totalen Säure hatte praktisch am zwölften Tage ein Gleichgewicht erreicht; daher wurden keine weiteren Proben genommen.

Aus den auf den hölzernen Silo bezugnehmenden Zahlen ist es ersichtlich, daß die Menge der gebildeten flüchtigen Säure während der ersten drei Tage am größten ist. Bis zum dritten Tage ist fast zweimal so viel Säure gebildet worden als wie später vom drittten bis zum vierzehnten Tag. Die Bildung von flüchtigen Säuren erreichte praktisch ein Maximum zur Zeit, wo bloß die Hälfte der Milchsäure gebildet worden war.

Der Hohlziegelsilo zeigte eine viel langsamere Säurebildung sowohl der flüchtigen als auch der Milchsäure. Die Resultate sind nicht vergleichbar mit jenen des Holzsilos, weil die Maishalme zur Zeit des Einschneidens in einem höheren Grad der Reife waren, und die durch-

schnittliche Feuchtigkeit 4% geringer war. Wegen der größeren Reife waren die löslichen Kohlenhydrate, welche fähig sind durch Gärung zu säuern, ohne Zweifel in kleinerem Maße vorhanden, und die Bedingungen für schnelle Gärung waren auch weniger günstig wegen des geringeren Wassergehaltes. In diesem Silo zeigten die Bestimmungen größere Gleichmäßigkeit als wie dies im anderen Silo der Fall war.

Es muß aber bedacht werden, daß der Inhalt eines Silos durchaus nicht gleichartig ist. Eine Anzahl von beitragenden Faktoren bewirken, daß eine gegebene Probe eingesäuerten Maises einigermaßen verschieden ist in der Zusammensetzung von dem angrenzenden Mais. Um zahlreiche Unregelmäßigkeiten auszuschließen wäre es notwendig, viel größere Proben zu nehmen, als man ohne Schädigung des übrigen Sauermaises für die Verfütterung entfernen und in einem chemischen Laboratorium bequem behandeln könnte. Die Resultate hingegen zeigen sehr deutlich die allgemeine Richtung, welche die Kurve einschlagen würde. Es ist ganz unwahrscheinlich, daß die Materialien, von welchen die beiden Silos konstruiert waren, irgend welchen Einfluß auf die Säuremengen der Gärung in den beiden Fällen hatten.

Verfaulter Sauermais.

Um den Einfluß von aërobischer Gärung auf die Milchsäure zu bestimmen, wurde eine Probe von verdorbenem eingesäuertem Mais von der Oberfläche des Holzsilos untersucht. Die Ergebnisse betreffs der flüchtigen Säure für diese Probe wurden in unserer früheren Mitteilung bekanntgegeben. Nach dem Abdampfen wurde der Rückstand mit Äther extrahiert und mit Zinkkarbonat in der gewöhnlichen Weise behandelt. Es wurden jedoch keine Kristalle von Zinklaktat erhalten. Beim Faulen des eingesäuerten Maises durch Schimmelpilze erleidet augenscheinlich die Milchsäure dasselbe Schicksal wie die flüchtigen Säuren. Diese Säuren sind nicht bloß neutralisiert durch basische Produkte, welche bei der Zersetzung des Proteins entstehen, sondern sie werden in der Tat zerstört.

Optische Formen der Milchsäure.

Die soweit erhaltenen Resultate zeigen an, daß die Milchsäure in eingesäuertem Mais optisch inaktiv ist. Dies ist zu erwarten, da die Milchsäure-Bakterien kaum in Reinkulturen vorhanden sein können, weil die Infektion nur zufällig ist. Gegen unsere Schlußfolgerung könnte hin-

gegen der Einwand gemacht werden, daß während der Behandlung der Probe eine razemische Umwandlung hätte stattfinden können. Dampfdestillation in der Gegenwart von flüchtiger und einem kleinen Überschuß von Mineralsäure und besonders Sterilisation des Sauermaissaftes im Autoklav könnte zu erwarten geben, daß eine molekulare Umwandlung verursacht würde, wodurch die beständigere inaktive Säure entstehe aus der aktiven Säure, die ursprünglich vorhanden war. In der Literatur war nichts angegeben bezüglich der Temperatur, bei welcher die Razemisation von Milchsäure beginnt. Um sicher festzustellen, ob eine solche Änderung in unseren Proben entstanden war, war es nötig, die zwei aktiven Formen darzustellen, und sie der gleichen Behandlung zu unterwerfen, um zu bestimmen, ob sie ihre Aktivität beibehielten.

Für die Trennung razemischer Säuren in ihre aktiven Komponenten sind verschiedene Methoden bekannt, wie zum Beispiel die spezifische Wirkung von Mikroorganismen, der Unterschied in der Löslichkeit und die verschiedene Art der Kristallisation der Salze mit optisch aktiven Basen wie den Alkaloiden. Eine bequemere Methode im Falle der Milchsäure ist die Gärung von Kohlenhydraten durch Reinkulturen von Organismen, welche bekanntlich die Fähigkeiten besitzen, die gewünschte optische Form hervorzubringen. Diese Methode wurde erfolgreich in unseren eigenen Versuchen angewendet.

Die Nährlösung, die zu diesem Zwecke diente, war folgendermaßen zusammengesetzt:

Destilliertes Wasser	1000 g
Milchzucker . . .	40 g
Pepton	10 g
Fleischextrakt . .	3 g
Natriumchlorid . .	5 g
Kalziumkarbonat .	16 g

Drei Liter der obigen Mischung wurden in separaten Kolben hergestellt und genug Glasperlen hinzugefügt, um den Boden des Kolbens zu bedecken. Nach Sterilisation wurde geimpft mit einer Reinkultur von Streptococcus lacticus. Die Kolben wurden in einem Brutschrank bei 35° aufbewahrt und täglich gründlich geschüttelt, wobei die Perlen das Kalziumkarbonat vom Boden des Kolbens, wo es sich gesetzt hatte, aufrührten und dadurch eine vollständigere Neutralisation der gebildeten Säure sicherten. Nach vier Wochen wurden die Kulturen filtriert und zu einem kleinen Volumen abgedampft. Schwefelsäure wurde hinzugefügt, um die Milchsäure von ihrem Kalksalz zu befreien und das

gefällte Kalziumsulfat wurde sodann durch die Zentrifuge entfernt. Die Lösung wurde mit Äther drei Tage lang extrahiert. Der Auszug wurde mit Wasser verdünnt, und der Äther durch Abdampfung entfernt. Diese wässerige Lösung wurde nun mit Zinkkarbonat behandelt und bis zu beginnender Kristallisation eingedampft, dann beiseite gestellt, bis ein reichlicher Kristallanschuß erhalten war. Die spezifische Drehung dieses Zinksalzes stimmte mit der des Zink-d-laktats überein.



Fig. 1.
Zink-l-laktat aus Kulturen von Bacterium aerogenes.

[α] D 1% Lösung gefunden — 7,8°
[α] D 4% „ Theorie[1]) — 7,55°

Das rechtsdrehende Zinksalz der Säure wurde auf dieselbe Weise dargestellt, mit der Ausnahme, daß die Impfung mit Bacterium aërogenes geschah, anstatt mit Streptococcus lacticus, und daß die Kulturen nur zwei Wochen im Brutschrank blieben. Der Auszug zeigte eine Linksdrehung vor und eine Rechtsdrehung nach der Neutralisation

[1]) Hoppe-Seyler und Araki: Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 20, S. 371.

mit Zinkkarbonat. Gut gebildete Kristalle wurden ohne Schwierigkeit erhalten.

$[\alpha]$ D 1% Lösung gefunden $+ 7{,}75^{0}$
$[\alpha]$ D 4% „ Theorie[1]) $+ 7{,}55^{0}$

Nach der Erhaltung der optischen Formen der Milchsäure blieb es uns übrig, eine Lösung von bekannter Aktivität derselben Behandlung zu unterwerfen, welche den Sauermaisproben zuteil wurde, d. h. Ste-

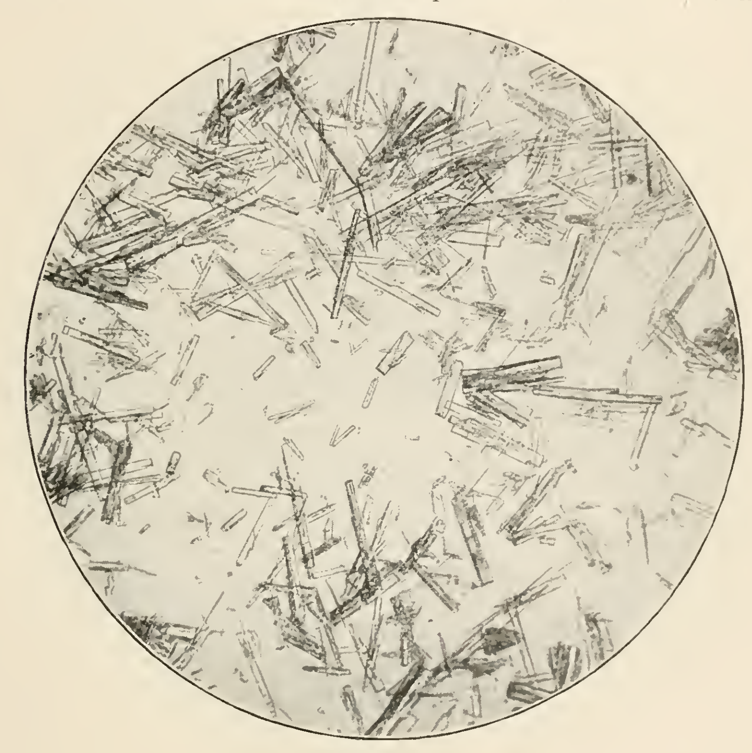


Fig. 2.
Zink-dl-laktat aus eingesäuertem Mais.

rilisation im Autoklav in Gegenwart von flüchtiger Säure und Verdampfung unter vermindertem Druck. Eine Lösung, welche flüchtige und nichtflüchtige Säure in ungefähr gleichen Verhältnissen und gleicher Konzentration enthielt, wie sie im Sauermaissaft vorkommen, wurde folgender Weise zubereitet. Zu 100 ccm einer Lösung der d-Säure, welche eine Drehung von $+ 0{,}6^{0}$ V. in einer 4 dcm-Röhre aufwies, wurden 100 ccm von 1% Essigsäure hinzugefügt. Nach Sterilisation auf gewöhnliche Weise in einer Druckflasche wurden 10 ccm dezi-

[1]) Hoppe-Seyler und Araki: Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 20, S. 371.

normaler Schwefelsäure hinzugefügt, und die Lösung mit Dampf unter vermindertem Druck destilliert, bis ein Destillat von 4 Liter übergegangen war. Der die Milchsäure enthaltende Rückstand wurde zu seinem ursprünglichen Volumen (100 ccm) verdampft und in einer 4 dcm-Röhre untersucht.



Fig. 3.
Zink-d-laktat aus Kulturen von Streptococcus lacticus.

	Polarisation
Ursprüngliche Lösung	+ 0,6° V.
Nach Ster. und Dest.	+ 0,6° V.

Eine ähnliche Behandlung mit l-Säure ergab folgende Resultate:

	Polarisation
Ursprüngliche Lösung	— 0,4° V.
Nach Ster. und Dest.	— 0,4° V.

Diese Versuche zeigen entscheidend, daß die aktiven Isomeren der Milchsäure nicht razemisiert werden durch die Behandlung, welcher unsere Sauermaisproben vor und während der Analyse unterworfen wurden.

Nebenbei zeigen die isomeren Formen des Zinklaktats einige interessante kristallographische Betrachtungen. Die inaktive Modifikation

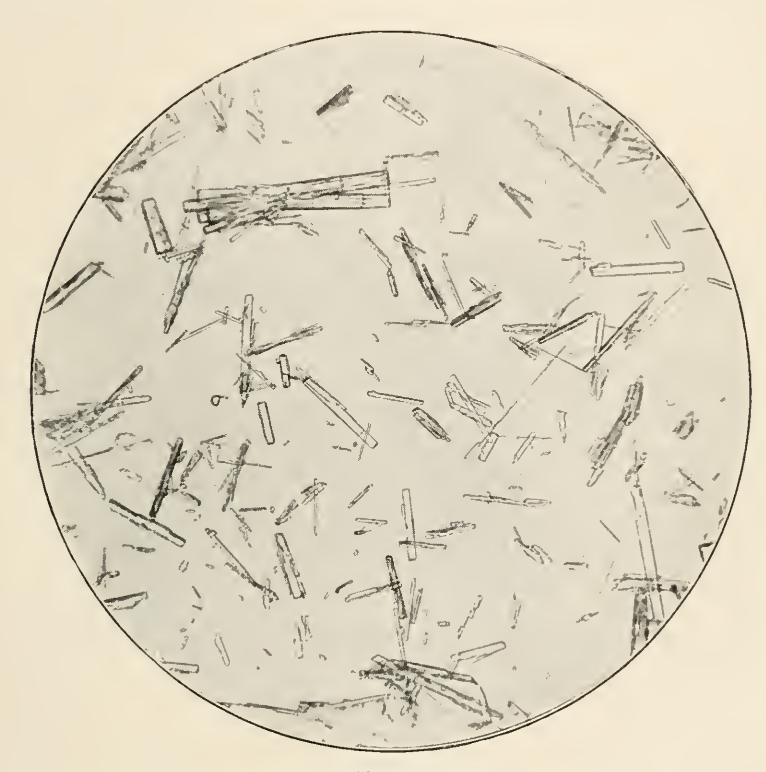


Fig. 4.
Zink-dl-laktat aus Handelsmilchsäure.

mit drei Molekülen Kristallwasser ist besonders verschieden in Kristallform von den aktiven Arten mit zwei Molekülen Wasser. Die Photomikrographien (Fig. 1—4) veranschaulichen diese Unterschiede. Das Zinksalz aus eingesäuertem Mais und das aus Handels-dl-Milchsäure zeigen dieselbe Kristallform. Die aktiven Salze hingegen sind ganz eigenartig, aber unterscheiden sich voneinander nur in der räumlichen Anordnung der Kristallflächen und sind deshalb Enantiomorphen.

Schlußbetrachtungen.

1. Milchsäure ist normalerweise in eingesäuertem Mais im Überschuß gegenüber der flüchtigen Säure vorhanden. Das durchschnittliche Verhältnis war 1,0 zu 0,76.

2. Die Form, in welcher die Milchsäure in eingesäuertem Mais vorkommt, ist die inaktive oder razemische Mischung.

3. Die Menge der Milchsäure und ihr Verhältnis zu den flüchtigen Säuren werden nicht durch die Materialien, aus welchen der Silo erbaut ist, beeinflußt.

Literaturliste der im Jahre 1912 erschienenen Arbeiten auf dem Gebiete der Mykologie der Weinbereitung.

Von **H. Harff**, Weinsberg.

Amthor, C. und **Kraus, P.** Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Unterelsaß und Lothringen. Ergebnisse d. amtl. Weinstatistik, Berichtsjahr 1910/11, S. 202, 570.

Astruc, H. Expérience de vinification. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 971.

— Les nouveaux procédés de vinification. Ebenda, **38**, 1912, Nr. 989 u. 990.

Baragiola, W. J. und **Godet, Ch.** Weine aus überschwefelten Traubenmosten. Mitt. a. d. Gebiete d. Lebensmitteluntersuchung u. Hygiene, **3**, 1912, Heft 3.

— — Die Wertung der Milchsäure bei der Weinbeurteilung. Ebenda, **3**, 1912, Heft 5.

Bauer, E. Versuche zur analytischen Bestimmung freier Schwefelsäure neben organischen Säuren und deren gärungsphysiologische Wirkung mit besonderer Berücksichtigung der Brennereimaischen. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. II, 1912, S. 66.

Becker, S. und **Loos, A.** Die Zusammensetzung der Moste des Jahres 1911 im Großherzogtum Baden. Mitt. d. Deutsch. Weinbau-Vereins, **7**, 1912, Nr. 7.

Benke, A. Die Einwirkung reinen Stickstoffs auf verschiedene Weingattungen. Allg. Weinztg., 1912, Nr. 1482.

Bokorny, Th. Einwirkung von Metallsalzen auf Hefe und andere Pilze. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **35**, 1912, Nr. 6—10.

Brunet, R. La préparation du moût. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 974.
— La température du moût. Ebenda, **38**, 1912, Nr. 973.
— Le cuvage des moûts rouges. Ebenda, **38**, 1912, Nr. 977, 979.
— Le soutirage. Ebenda, **38**, 1912, Nr. 988.

Buchner und **Meisenheimer.** Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung. 5. Mitteilg. Ber. d. deutschen chem. Gesellsch., Bd. 45, 1912, S. 1633.

Carles, P. La consommation de l'acide tartrique. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 971.

Demolon, A. et **Kayser, E.** Influence de quelques facteurs et notamment des sels de chaux sur le vieillissement des vins en présence de levure. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 970.

Dubourg, E. et **Gayon, U.** Recherches sur la vitalité des levures. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 968.

Ewert, R. Verschiedene Überwinterung der Monilien des Kern- und Steinobstes und ihre biologische Bedeutung. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., **22**, 1912, S. 65.

Fallot, B. La fermentation alcoolique. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 974.

Fischer. Zur Behandlung der zum Braunwerden neigenden 1911er Weißweine. Geisenheimer Mitt., 1912, Nr. 1.

— Entsäuerung mittels reinen gefällten kohlensauren Kalk. Ebenda, 1912, Nr. 9.

— Winzer sorgt für eine gute Vergärung der 1912er. Ebenda, 1912, Nr. 11.

Gayon, U. et **Dubourg, E.** Recherches sur la vitalité des levures. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 968.

Graff, G. Alkoholgehalt der Süßweine. Deutsche Wein-Ztg., Jahrg. 49, 1912, Nr. 40.

— Zur Behandlung von Samoswein. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, **23**, 1912, Nr. 9.

Guilliermond, A. Les Levures. Paris 1912.

Günther, A. Die Entsäuerung des Weines mit kohlensaurem Kalk. Mitt. d. D. Weinbau-Vereins, **7**, 1912, Nr. 11.

Haid, R. Über den unvergärbaren Zucker (Pentose) und die Furfurolbildung im Wein. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. II, 1912, S. 107.

Halenke und **Krug.** Vergleichende Versuche über den Säurerückgang in gezuckerten und ungezuckerten Weinen des Jahres 1910 aus dem Weinbaugebiet der Pfalz. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 15 u. 16.

— Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Bayern. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berichtsjahr 1910/11, S. 126, 422.

Heide, C. v. d. Der Einfluß des Schönens auf die chemische Zusammensetzung des Weines. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel, **24**, 1912, Nr. 4.

— Untersuchung von Mosten des Jahres 1911 aus den preußischen Weinbaugebieten. Ebenda, **23**, 1912, Nr. 10.

— Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen, Preußen. A. Rheingau usw. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 35, 218.

Kayser, E. Recherches sur la Graisse des Cidres. La Revue de Cidre et Le Poire, Paris, 1912.

— et **Demolon, A.** Influence des quelques facteurs et notamment des sels de chaux sur le vieillissement des vins en présence de levure. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 970.

Kita, G. Hefen aus Ikashiokara. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **35**, 1912, Nr. 17—19.

Konoktin und **Nadson.** Guilliermondia, eine neue Hefegattung mit heterogener Kopulation. Orig.-Ref. im Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, Nr. 10—13.

Kossowicz, Al. Die Bindung des elementaren Stickstoffs durch Saccharomyceten (Hefen), Monilia candida und Oidium lactis. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 253.

— und **Loew, W.** Über das Verhalten von Hefen und Schimmelpilzen zu Natriumthiosulfat. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. II, 1912, S. 87.

Krauß, P. und **Amthor, C.** Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Unterelsaß und Lothringen. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berichtsjahr 1910/11, S. 202, 570.

Krömer, K. Die Bildung flüchtiger Säuren durch die Organismen des Weines. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 10—11.

— Über Maskenbildung im Schaumwein. Neue D. Weinztg., Jahrg. 7, 1912, Nr. 6.

Krug und **Halenke.** Vergleichende Versuche über den Säurerückgang in gezuckerten und ungezuckerten Weinen des Jahrgangs 1910 aus dem Weinbaugebiet der Pfalz. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 15—16.

Krug und **Halenke.** Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Bayern. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berichtsjahr 1910/11, S. 126, 422.

Krug und **Schätzlein.** Untersuchung der 1912er Moste der Pfalz. Mitt. d. D. Weinbau-Vereins, **7**, 1912, Nr. 12.

Kulisch, P. Die 1912er Weine Elsaß-Lothringens und deren Behandlung. Landw. Zeitschr. f. Elsaß-Lothringen, **40**, 1912, Nr. 46.

— Einige Winke betr. die Kellerbehandlung der Weine des Jahrgangs 1911. Ebenda, **40**, 1912, Nr. 2.

— Gärungsverzögerungen an den 1912er Mosten. Ebenda, **40**, 1912, Nr. 43.

— Vortragskursus über die Erziehung der elsässischen Weine zur Flaschenreife. Ebenda, **40**, 1912, Nr. 32.

— Winke für die Behandlung der geringsten der 1912er Weine, namentlich solcher von stark erfrorenen Trauben. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 44.

— Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Elsaß-Lothringen. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 154, 550.

Lendrich, Kikton, Murdfield. Die Auslandwein-Kontrolle in Hamburg bis zum 31. Dezember 1911. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, **24**, 1912, Nr. 12.

Lerou, J. L'ouillage des vins. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 985.

— La fabrication des piquettes. Ebenda, **38**, 1912, Nr. 983.

Lindner, P. Über das allgemeinere Vorkommen von Hefe und Alkohol in der Natur. Ein Beitrag zur Naturgeschichte der alkoholischen Gärung. Tagesztg. f. Brauerei, 1912, Nr. 88.

Loos, A. und **Becker, S.** Die Zusammensetzung der Moste des Jahrgangs 1911 im Großherzogtum Baden. Mitt. d. Deutsch. Weinbau-Vereins, **7**, 1912, Nr. 7.

Mach, F. und **Stang, A.** Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Baden. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsj. 1910/11, S. 140, 479.

Martinand, V. Des qualités que doivent présenter les levures et de leur emploi dans la vinification. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 974, 975.

Mathieu, L. Influence de la température de cuvaison sur la qualité du vin rouge. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 976.

Mayrhofer. Weinstatistische und moststatistische Untersuchungen für Rheinhessen. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 144, 499.

Meißner, R. Behandlung der 1912er Weine. Südd. Küferztg., Jahrg. 9, 1912, Nr. 20.

— Behandlung der 1912er württemb. Weine. Ebenda, Jahrg. 9, 1912, Nr. 21.

— Behandlung essigstichiger Mostfässer. Weinbau, **11**, 1912, Nr. 1.

— Behandlung säurereicher und säurearmer Weine unter besonderer Berücksichtigung des natürlichen Säureabbaues. Südd. Küferztg., Jahrg. 9, 1912, Nr. 14.

— Die Behandlung kranker und fehlerhafter Obstmoste. Neue Deutsch. Weinztg., Jahrg. 7, 1912, Nr. 10.

— Moststatistische Untersuchungen von 1912er württemb. Traubensäften. Weinbau 1912. Deutsche Küfer- u. Kellereiztg., 1912. Weinbau u. Weinhandel, 1912, Nr. 49.

— Untersuchung von 1911er württemb. Traubensäften. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berichtsjahr 1910/11, Berlin 1912, S. 459.

— Über die Aufbewahrung unvergorener Beeren-, Obst- und Traubensäfte im kleinen Haushalt. Württ. Landw. Wochenbl., 1912, Nr. 28.

— Über die langsame Gärung des Asti-Muskatweines (Asti spumante). Allg. Weinztg. Wien, 1912, Nr. 1503.

— Versuche über die Entsäuerung von 1910er württemb. Weinen mittels reinen gefällten kohlensauren Kalkes. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, **1**, 1912, Heft 1.

— Versuche über die Vergärung von Traubensäften bei Gegenwart von Petroleum und die Wiederherstellung petroleumhaltiger Getränke. Weinbau, **11**, 1912, Nr. 1.

— Versuche über die Verwendung reingezüchteter württemb. Weinhefen in der Praxis der Schaumweinbereitung. Neue Deutsch. Weinztg., Jahrg. 7, 1912, Nr. 1.

— Vorsicht beim Verbessern der 1912er Traubensäfte und Weine. Württ. Landw. Wochenbl., 1912, S. 711.

Meißner, R. Weinstatistische Untersuchungen von 1910er württemb. Weinen. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berichtsjahr 1910/11, Berlin 1912, S. 134.

— Zehnjähriger Versuch über die Lebensdauer reingezüchteter Weinhefen in 10prozentiger Rohrzuckerlösung. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, **1**, 1912, Heft 2.

Mensio, C. Der Asti-Muskatschaumwein (Asti spumante). Allg. Weinztg., Wien, 1912, Nr. 1486.

Merz, J. L. Die Verwertung fehlerhafter und kranker Weine. Allg. Weinztg., 1912, Nr. 1477.

— Ist eine Übertragung des Sortenbouketts mittels Reinhefe möglich? Ebenda, 1912, Nr. 1479.

Molz, E. Bemerkungen zu Munks Arbeit. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, Nr. 1—3.

— Richtigstellung der Entgegnung Dr. M. Munks. Ebenda, **36**, 1912, Nr. 15—18.

Moreau, L. et **Vinet, E.** Etudes sur la vinification des raisins blancs de Chenin. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 963, 983.

Munk, M. Entgegnung auf Dr. E. Molz' Antwort. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, Nr. 18—22.

Muth, Fr. Der 1912er Jahrgang. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 50 u. 51.

Müller-Thurgau, H. Bericht der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil für die Jahre 1909 und 1910. Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1912, S. 269—468.

Müller-Thurgau und **Osterwalder, A.** Die Bakterien im Wein und Obstwein und die dadurch hervorgerufenen Veränderungen, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **36**, 1912, Nr. 6—14.

Neuberg, C. und **Kerb, J.** Entsteht bei zuckerfreien Hefegärungen Äthylalkohol? Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 114.

Omeis, Th. Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für Bayern. A. Franken. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 116, 395.

— Versuche bezüglich Entsäuern mit reinem gefällten kohlensauren Kalk. Ebenda, S. 604.

— Versuche und Untersuchungen zur Erforschung des Säurerückganges im Wein. Ebenda, S. 597.

Osterwalder, A. Eine neue Gärungsmonilia: Monilia vini n. sp. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, Nr. 11—14.

— Über die Bildung flüchtiger Säuren durch die Hefen nach der Gärung bei Luftzutritt. Ebenda, **32**, 1912, Nr. 20—25,

— Verwendet die Reinhefe bei der Vergärung der Obstweine. Schweiz. Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau, 1912, S. 277.

— Von der Obstfäule am Baum. Ebenda, 1912, S. 261.

— Ziehet die milden Obstweine nach der Gärung vom Trub ab. Ebenda, 1912. S. 7.

Petri, W. Mosel-, Rhein- und Ahr-Moste des Jahrgangs 1911. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel, **23**, 1912, Nr. 8.

— Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für Preußen. Gebiet der Mosel usw. Ergebnisse d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 62, 276.

Roos, L. Vins rosés. Revue de Viticulture, **38**, 1912, Nr. 972.

Schätzlein, Ch. Zur Behandlung der 1912er Weine. Mitt. d. D. Weinbau-Vereins, **7**, 1912, Nr. 11.

Schätzlein und **Krug.** Untersuchung der 1912er Moste der Pfalz. Mitt. d. D. Weinbau-Vereins, **7**, 1912, Nr. 12.

Schellenberg. Zur Bereitung der Rotweine. Schweiz. Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau, 1912, S. 293.

Schindler. Praktische Winke für die Behandlung säurereicher Jungweine. Allg. Weinztg., Wien, 1912, Nr. 1505.

Schneider-Orelli, O. Versuche über die Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, Nr. 6—12.

— Zur Kenntnis des mitteleuropäischen und des nordamerikanischen Gloeosporium fructigenum. Ebenda, **32**, 1912, Nr. 13—19.

Seifert, W. Klosterneuburger Versuche mit Kohlensäure behufs Verhinderung des Kahmigwerdens. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 37.

— Tätigkeitsbericht des chemischen Versuchs- und Hefereinzuchtlaboratoriums Klosterneuburg 1911/12.

Stang, A. und **Mach, F.** Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für Baden. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 140, 479.

Stern. Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für Preußen. B. Weinbaugebiet der Nahe, der Nahe und des Glans usw. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 52, 251.

Süß. Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für das Königreich Sachsen. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 132, 457.

Wellenstein. Die Moste des Jahrganges 1911 aus dem Gebiete der Mosel und ihrer Nebenflüsse. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel, **23**, 1912, Nr. 12.

— Versuche über Säureabbau. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 30.

— Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für Preußen. D. Gebiet der Obermosel, Mittelmosel, Saar und Ruwer. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 38, 340.

Weller. Moststatistische und weinstatistische Untersuchungen für Hessen. B. Bergstraße und Odenwald. Ergebn. d. amtl. Weinstatistik, Berlin, Berichtsjahr 1910/11, S. 150, 541.

Wortmann. Über den Einfluß der Temperatur auf den Geruch und Geschmack des Weines. Weinbau u. Weinhandel, **30**, 1912, Nr. 2, 3, 4 u. 5.

Zschokke. Die Herstellung alkoholfreier Getränke mit Kohlensäure. Schweiz. Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau, 1912, S. 290.

Referate.

Burri, R. (Ref.) und Kürsteiner, J. Zur Klärung der Anschauungen über die reduzierenden Eigenschaften der Kuhmilch. Milchwirtschaftl. Zentralbl., Bd. 41, 1912, S. 40, 68, 101, 134, 168.

Die von Seligmann u. a. beigebrachten Beweismittel zur Stütze einer einheitlichen Auffassung der in normaler, ungekochter, mit formalinfreiem oder formalinhaltigem Methylenblau gefärbten Milch zur Wirkung gelangenden Reduktionsfaktoren müssen eine Umdeutung erfahren. Die Verschiedenheit der in Betracht kommenden Reduktionskräfte ist schon durch die Arbeiten von Trommsdorff und Rullmann, Bredig und Sommer festgestellt und durch die vorliegenden Ergebnisse neuerdings bestätigt worden.

Bei der Erklärung der im Gebiet der reduzierenden Wirkung der Milch einwandfrei beobachteten Erscheinungen sind insbesondere folgende Resultate und Erwägungen in Berücksichtigung zu ziehen:

1. Bei den üblichen Reduktionsprüfungen kann nicht nur der über, sondern auch der in dem Reaktionsgemisch befindliche molekulare Sauerstoff den reinen Reduktionsvorgang hemmen, was namentlich in jenen Fällen von Bedeutung ist, wo es sich um den Nachweis von sehr geringen Mengen reduzierender Substanz handelt. Der exakte Reduktionsversuch muß demnach unter Bedingungen durchgeführt werden, die gestatten, die zu reduzierende Farbstofflösung einerseits und die das Reduktionsmittel enthaltende Flüssigkeit andererseits unabhängig voneinander sauerstofffrei zu machen und sodann auf einwandfreie, jedes Zutreten von Sauerstoff ausschließende Weise miteinander zu vereinigen. Diese Versuchsanordnung ist gegeben in dem bei Studien über Anaerobiose von J. Kürsteiner verwendeten, mit dem Wright-Burrischen Anaerobenverschluß versehenen, zweiteiligen Kulturrohr. Die unter Einhaltung der genannten Versuchsbedingungen gewonnenen Resultate bestätigen vollkommen die Berechtigung der Forderung des vollständigen Sauerstoffausschlusses zur Darstellung des reinen Reduktionsvorganges (M-Reaktion). Bei der Deutung der Befunde von Trommsdorff und Rullmann, wonach nachweislich keimfreie, rohe, aerob verschlossene Milch die M-Reaktion nicht gibt, wäre der wichtige Faktor des ungehinderten Sauerstoffzutrittes zu berücksichtigen. Es ist anzunehmen, daß es eine von Sauerstoff

befreite und vor Sauerstoffzutritt geschützte Milch, die Methylenblau nicht entfärbt, kaum geben kann, daß vielmehr jede Milch Bestandteile enthält, die auf Methylenblau reduzierend wirken, abgesehen von den Bakterien, die unter gewöhnlichen Umständen natürlich in erster Linie die Reduktion des Methylenblaus in Milch zu bewirken vermögen.

Die Rolle, die die Bakterien bei der M-Reaktion und bei Reduktionsvorgängen überhaupt spielen, ist in vorliegender Arbeit zum Gegenstand einer eingehenden Diskussion gemacht worden. Nach den Anschauungen Pflügers, P. Ehrlichs u. a. kann als feststehend gelten, daß das lebende Protoplasma Sauerstoff durch chemische Bindung aufnimmt und daß ein solches oxydiertes Plasma denselben wieder abgeben kann. Diese Tatsachen deuten auf die Möglichkeit hin, daß das Plasma seinen Sauerstoffbedarf unter Umständen überhaupt nicht aus dem freien Sauerstoff der Umgebung zu entnehmen braucht, sondern imstande ist, gebundenen Sauerstoff sich auf dem Wege der Reduktion zu eigen zu machen. Ein Beweis, daß dieser Weg, den man, im Gegensatz zur gewöhnlichen Sauerstoffaufnahme, als Sauerstoffschiebung bezeichnen könnte, vom Plasma benutzt wird, liegt in der Existenz der obligat und fakultativ anaeroben Bakterien, wie auch der intramolekularen Atmung aerober Organismen. Die Annahme, daß es kein lebendes Plasma ohne Reduktionsvermögen gibt, ist berechtigt und wo der Versuch das Gegenteil zu beweisen scheint, ist in Erwägung zu ziehen, daß das Reduktionsvermögen gewisser Zellen einen ausgesprochen elektiven Charakter hat und demnach nicht bei Verwendung eines beliebigen Indikators zum Ausdruck zu gelangen braucht und ferner, daß die reduzierende Fähigkeit bei geringer quantitativer Ausprägung der Beobachtung entgehen kann. Nach Cathcart und Hahn, welche Autoren sich im besonderen mit der Ergründung des Wesens der Bakterienreduktion befaßten, zeigten alle untersuchten Bakterienarten, wenn auch in verschiedenem Grade, das Vermögen, Methylenblau zu reduzieren. Im einzelnen Versuch war die Intensität der Reduktion abhängig von der Art und von der Zahl der in der Suspension enthaltenen Zellen wie auch von der Natur des Suspensionsmediums. Alle Einflüsse, welche das Bakterienleben zu schädigen geeignet sind, wirkten im allgemeinen hemmend oder völlig unterdrückend auf die Reduktion. Besonders bemerkenswert ist die Feststellung, daß anaerobe Bakterien gewöhnlich viel kräftiger reduzieren als aerobe und daß von den fakultativ anaeroben die bei Luftausschluß herangewachsenen Zellen bezüglich der Reduktionskraft den unter aeroben Verhältnissen gestandenen Zellen überlegen sind. Bei der Nachprüfung dieser Befunde wurde konstatiert, daß das fakultativ anaerobe Bact. coli unter gleichen Bedingungen in viel kürzerer Zeit (12—36 Min.) eine Methylenblaulösung entfärbte als die aeroben Mikroorganismen Mycoderma und Bac. megatherium (4 Stunden). Bei den letzteren ergab sich, daß die der Luft ausgesetzten Parallelkulturen später entfärbt waren als die vor Sauerstoffzutritt geschützten. Es ist nicht überraschend, wenn bei ausgeprägt sauerstoffbedürftigen Organismen die oxydativen Pro-

zesse bei Gegenwart molekularen Sauerstoffes überwiegen nnd allfällig vorhandene reduzierende Fähigkeiten der Zelle nicht hervortreten lassen, während gerade bei Sauerstoffmangel das Reduktionsvermögen das Mittel bildet, den Stoffwechsel und damit das Leben auf einige Zeit zu unterhalten. Hinsichtlich der Verhältnisse, wie sie für die in der Milch vorkommenden Bakterien bestehen, ist sicher, daß die Zeit, die bis zur Entfärbung einer mit Methylenblau gefärbten, rohen Milch verstreicht, um so kürzer sein wird, je mehr Milchsäurebakterien die Milch enthält, bezw. je älter sie ist. Aus diesem Zeitmaß einen Schluß auf den Keimgehalt bezw. Frischezustand der betreffenden Milch zu ziehen, ist auf Grund einschlägiger Arbeiten von P. Th. Müller, Orla-Jensen, der Verf. u. a. vollkommen gerechtfertigt.

Zu beachten sind bei der Durchführung von Reduktionsversuchen wissenschaftlicher und praktischer Art zwei noch sehr wenig aufgeklärte Fehlerquellen. Die eine derselben liegt im Methylenblau selbst, bezw. in der wenig stabilen Natur dieses Farbstoffes. Die andere Fehlerquelle ist in dem eigentümlichen Verhalten des Methylenblaus gegenüber dem Sonnenlicht begründet. Direktes Sonnenlicht ist imstande, gewisse im zerstreuten Licht vollständig entfärbte Milch-Methylenblaugemische, die unter dem Anaerobenverschluß gehalten werden, wieder blau zu färben. In der Dunkelheit geht die blaue Farbe wieder in Weiß über, kann jedoch durch erneute Sonnenbestrahlung wieder erzeugt werden u. s. f. Andererseits kann man beobachten, daß relativ stark verdünnte, wässerige Methylenblaulösungen im direkten Sonnenlicht nach kurzer Zeit zu verblassen beginnen und beinahe farblos werden.

Die eigentliche Natur des in Wirkung tretenden reduzierenden Prinzips bei der durch Bakterienwirkung bedingten Entfärbung einer beliebigen, mit Methylenblau versetzten Rohmilch ist noch nicht endgültig festgestellt. Einige Autoren sind geneigt, die Existenz reduzierender Enzyme bei den Bakterien anzunehmen (Bakterienreduktase), während andere die in der Milch auf Zusatz von bestimmten Farbstoffen eintretenden Reduktionserscheinungen als unmittelbare Wirkung des Bakterienplasmas auffassen. Die experimentellen Resultate von H. Smidt, E. Carapelle und Cathcart und Hahn sprechen eher gegen als für die Existenz eines von Bakterien gebildeten reduzierenden Enzyms. W. Kruse dagegen glaubt, daß schon der Augenschein in Stich- und Strichkulturen, die mit reduzierbaren Farbstoffen versetzt sind, die allmählich eintretende Diffusion des reduzierenden Stoffes beweist, die nur dadurch ermöglicht würde, daß die Zellen eben die wirksamen Stoffe ausscheiden. Diese Deutung des Bildes, welches mit reduzierbaren Farbstoffen versetzte Stich- und Strichkulturen zeigen, ist nach Ansicht der Verf. nicht richtig. Daß die Entfärbung nicht bloß auf die mit der Bakterienmasse in direkter Berührung stehenden Teile des Nährbodens beschränkt bleibt, sondern sich auf dessen keimfreie Partien in bedeutende Entfernung erstreckt, braucht nicht notwendigerweise mit einer Diffusion reduzierender Stoffe erklärt zu werden. Ebenso plausibel ist die Annahme, daß der im Nährboden an-

fänglich vorhandene Sauerstoff von der wachsenden Bakterienmasse sehr schnell und vollständig aufgezehrt wird, so daß in der Umgebung der eigentlichen Kultur eine sich beständig vergrößernde sauerstofffreie Zone entsteht. Damit sind aber die Bedingungen geschaffen, daß auch Spuren reduzierender Substanzen, die in künstlichen, bei der Sterilisation meist hocherhitzten Nährböden niemals fehlen, ihre Wirkung geltend machen, d. h. im vorliegenden Falle das Methylenblau in seine Leukoverbindung überführen können. Wenn es übrigens auch gelingen sollte, bei reduzierenden Bakterien die Ausscheidung von reduzierenden Stoffwechselprodukten nachzuweisen, so kann es sich nach allen vorliegenden Erfahrungen nur um geringe Mengen handeln, die für die Erklärung der mächtig wirkenden Reduktionskräfte in gewöhnlichen Kulturen solcher Bakterien nicht ausreichen und es bleibt dann immer noch die Frage, ob der dem Nachweis zugängliche, durch reduzierende Stoffwechselprodukte bewirkte Vorgang mit der von der direkten Beteiligung der lebenden Zelle abhängigen Hauptreduktion überhaupt in ursächlichem Zusammenhang steht.

Nach Ansicht der Verf. liegen zurzeit für die Existenz einer von den Bakterien ausgeschiedenen reduzierenden Substanz enzymartiger Natur keine Beweise vor. Die bekannte Reduktionserscheinung, im besonderen die Entfärbung einer mit Methylenblau von bestimmter Konzentration gefärbten Milch ist eine unmittelbar durch die Bakterienzelle bezw. durch gewisse Plasmabestandteile hervorgerufene Wirkung. Diese Auffassung nähert sich dem Standpunkt Heffters, welcher die Reduktionskraft der Zellen des tierischen Gewebes mit der reduzierenden Wirkung gewisser labiler Atomgruppen des Plasmas, im besonderen Sulfhydrylgruppen erklären will. Diese in gewissem Sinne grobchemische Auffassung will R. Burri dahin modifizieren, daß im Bakterienplasma labile, reduzierende Gruppen anzunehmen wären, deren Existenzmöglichkeit mit dem Leben des Plasmas mehr oder weniger eng verbunden ist. Mit dieser Annahme würde einerseits dem auffallenden Parallelismus zwischen Lebenstätigkeit der Zelle und Reduktionswirkung und andererseits einer bei gewissen Arten ausgeprägten Spezifität der Reduktionswirkung Rechnung getragen.

2. Beim Erhitzen der Milch entstehen reduzierende Stoffe, deren Wirkung unter Umständen die Anwesenheit anderer reduzierender Agentien vortäuschen kann. Die Prüfung einer erhitzten Milch auf das Vorhandensein reduzierender Stoffe wurde unter Ausschluß der beiden Faktoren „bakterielle Reduktion“ und „freier Sauerstoffzutritt“ durchgeführt. Die letztere Bedingung war erfüllt bei konstanter Anwendung des Wright-Burrischen anaeroben Verschlusses der Versuchsgläser; die bakterielle Reduktion wurde einfach dadurch ausgeschlossen, daß man die in bestimmter Weise erhitzte Milch und Methylenblau bei einer Temperatur aufeinander wirken ließ, bei welcher jede Bakterientätigkeit ausgeschlossen ist. Auf Grund der Ergebnisse verschiedener Versuche wurden 90° als Versuchstemperatur gewählt.

Von den vielen, im Original wiedergegebenen Versuchsreihen zur Beantwortung der Frage, in welchem Umfange beim Erhitzen der Milch Methylenblau reduzierende Substanzen auftreten, sei nur eine erwähnt. Es wurden unter den oben genannten, im Original ausführlich beschriebenen Versuchsbedingungen folgende Resultate erhalten:

Erhitzungsgrad	Entfärbungszeit		
	I. Prüfung sofort	II. Prüfung nach 24 Stdn.	III. Prüfung nach 48 Stdn.
a) 90 Min. gekocht	4—5 Min.	8 Min.	12 Min.
b) 60 „ „	19 „	31 „	32 „
c) 45 „ „	28 „	37 „	36 „
d) 30 „ „	34 „	40 „	44 „
e) 15 „ „	53 „	62 „	57 „
f) 5 „ „	69 „	78 „	77 „
g) Aufgekochte Milch . . .	79 „	94 „	87 „
h) Rohe „ . . .	86 „	56 „	geronnen

Bei der Klarlegung der Ursachen, die für den Verlauf der M-Reaktion roher bezw. gekochter Milch ausschlaggebend sind, hat man zweifellos die Fragen nach der Dauer der Erhitzung und nachherigen Aufbewahrung jeder einzelnen Milchprobe in erster Linie zu beantworten. Denn von diesen Vorbedingungen hängt es ab, inwiefern bei der Beurteilung der Entfärbungszeit der Milch die drei Faktoren: Bildung reduzierender Stoffe (je nach der Dauer der Hitzewirkung) oder Bakterienvermehrung oder Sauerstoffaufnahme (je nach der Dauer der Aufbewahrung) einzeln oder in Kombination in Betracht gezogen werden müssen.

Die vorliegende, besonders bemerkenswerte Versuchsreihe bringt den Einfluß der genannten Faktoren klar zur Anschauung. Den in engen Intervallen fortschreitenden Erhitzungsgraden entspricht bei der ersten Prüfung eine im abnehmenden Sinne stetig verlaufende Reihe von Entfärbungszeiten, wobei der geringe Unterschied im Reduktionsvermögen zwischen roher und aufgekochter Milch in die Augen fällt. Das bloße Aufkochen der Milch bedingt also noch nicht die Bildung wesentlicher Mengen reduzierender Stoffe, dagegen ist bei den länger gekochten Proben eine viel kürzere Reduktionszeit, d. h. ein bedeutend größerer Gehalt an reduzierenden Stoffen bemerkbar. Während einer Stunde oder länger gekochte Milch zeigt sofort nach dem Kochen unter den gegebenen Versuchsbedingungen ungefähr die gleiche Entfärbungszeit wie sterilisierte Milch sofort nach Entnahme aus dem Autoklaven. Das auffallende Verhalten der rohen Milch (h) bei der II. und III. Prüfung hängt zweifellos mit der während der Aufbewahrung dieser Milch kräftig einsetzenden Bakterienvermehrung zusammen. Das geht besonders deutlich aus dem Ergebnis der Prüfung nach 48 Stunden hervor. Die Ent-

färbungszeit wäre hier kürzer als eine Minute gewesen, denn die Entfärbung hatte schon während der Montierung des Anaerobenverschlusses begonnen. Das Methylenblau war also in diesem Falle vor dem in voller Mächtigkeit vorhandenen Faktor der bakteriellen Reduktion nicht geschützt geblieben, sondern seiner Wirkung in kürzester Zeit anheimgefallen. Die umgekehrte Erscheinung, d. h. die mit der Aufbewahrung zunehmende Entfärbungszeit, ist wohl kaum durch Bakterienwirkung zu erklären, obwohl eine verschieden lang gekochte Milch bei gewöhnlicher Aufbewahrung früher oder später eine üppige Bakterienflora aufweisen kann. Es ist eher anzunehmen, daß die längere Dauer der Entfärbung der erhitzten Milchproben nach 24- bezw. 48stündiger Aufbewahrung auf eine Sauerstoffaufnahme der Milch zurückzuführen ist. Tritt dann, wie bei der III. Prüfung, nach ursprünglicher Zunahme wieder eine Abnahme der Reduktionszeit ein, so sind direkt oder indirekt Bakterien im Spiel (vergl. e, f, g).

Die Erscheinung der Zunahme der Reduktionszeit bei sterilisierter Milch, die in den bakteriologischen Laboratorien in sehr verschiedenem Alter zur Verwendung gelangt, ist durch besondere Versuche veranschaulicht worden. Je nach dem Alter der sterilen Milchprobe erhält man bei der Prüfung verschiedene Resultate, in dem Sinne, als vor kurzem sterilisierte Milch kurze Entfärbungszeiten, hingegen längere Zeit gestandene Proben derselben sterilen Milch lange Entfärbungszeiten aufweisen. Bei steriler Milch kann dieses Verhalten nur mit der Sauerstoffaufnahme der Milch zusammenhängen und dieser Vorgang ist für eine bestimmte Milch abhängig vom Verhältnis der mit der Luft in Berührung befindlichen Oberfläche der Milch zu ihrem Volumen. Es ist daher ein Unterschied, ob man eine im Reagenzglas befindliche Milchprobe in gewöhnlicher Weise senkrecht, oder aber in schräger Lage aufbewahrt. Die Aufbewahrung der Milch unter großer Oberflächenentwicklung hat während kurzer Zeit dieselben Wirkungen zur Folge, die an einer in gewöhnlicher Weise aufbewahrten Milch erst nach längerer Zeit zu konstatieren sind. Folgende Zusammenstellung zeigt, daß die verschiedenen Oberflächen bei gleichem Volumen schon eine Stunde nach erfolgter Sterilisierung eine Verschiedenheit im Ausfall des Reduktionsversuches bedingen.

Aufbewahrungsalter	Entfärbungszeit	
Zeit nach dem Sterilisieren	10 ccm aufrecht aufbewahrte sterile Milch	10 ccm liegend aufbewahrte sterile Milch
Sofort	4 Min.	4 Min.
1 Stunde	10 „	13 „
5 Stunden	10 „	16 „
1 Tag	10 „	20 „
2 Tage	$14\frac{1}{2}$ „	23 „
3 Tage	17 „	26 „

Mit dem zunehmenden Alter der Proben nähern sich die Werte der beiden Reihen, indem die Entfärbungszeit bei den gegebenen Versuchsbedingungen ein gewisses Maximum nicht überschreitet.

3. In nicht erhitzter, bakterienreicher bezw. zellenreicher Milch kann die Ausführung der FM-Reaktion bei 40—50° keinen zuverlässigen Aufschluß über die Menge des vorhandenen Enzyms geben, indem die reduzierende Tätigkeit der Bakterien und eventuell anderer lebenden Zellen eingreift und sich mit der Wirkung des Enzyms summiert oder diese verdeckt. Die Vorgänge bei der FM-Reaktion wurden von F. Schardinger nicht näher diskutiert. Immerhin geht aus einer Stelle seiner Mitteilung hervor, daß er geneigt war, die M- und FM-Reaktion als auf gleichen Grundlagen beruhend zu betrachten. In ausgesprochener Weise vertrat E. Seligmann, auch in Sommerfeldts Handbuch der Milchkunde, den Standpunkt einer einheitlichen Auffassung der der M- und FM-Reaktion zugrunde liegenden Vorgänge, indem er dieselben als im wesentlichen bakteriellen Charakters erklärt. Auch W. D. Kooper glaubte, neue Beweise zugunsten des bazillären Ursprungs der FM-Reduktase im Sinne der Seligmannschen Anschauungen erbracht zu haben; doch lassen sich bei vorurteilsfreier Deutung des Kooperschen Versuchsmaterials viel mehr Beweise für die Enzymnatur der FM-Reduktase als gegen dieselbe finden. Zuerst hat Henry Smidt festgestellt, „daß frische, rohe Kuhmilch, welche reine Methylenblaulösung nicht oder erst nach langer Zeit, die formalinhaltige aber bereits nach wenigen Minuten entfärbt, die Annahme eines auf das Formalin katalytisch wirkenden Fermentes verlangt.“ Dieser Auffassung schloß sich Orla-Jensen an. Entscheidende Tatsachen sind in den von R. Trommsdorff und W. Rullmann gemachten Beobachtungen zu erblicken. Diese Autoren zeigten, daß keimfrei dem Euter entnommene Milch die formalinhaltige Methylenblaulösung prompt entfärbt, womit der Beweis erbracht war, daß die FM-Reaktion, wie sie mit frischer, also in der Regel keimarmer Milch ausgeführt werden kann, mit Bakterien sicher nichts zu tun hat und daher mit um so größerer Wahrscheinlichkeit als Enzymreaktion gedeutet werden muß. Eine weitere Stütze dieser Auffassung bildet der bedeutungsvolle Befund von C. Bredig und F. Sommer, wonach die FM-Lösung durch kolloidale Metalle, im besonderen Iridium und Platin, ähnlich wie durch frische Milch entfärbt wird. Diese Belege sprechen direkt für eine katalytische Wirkung des mit dem Formaldehyd an der fraglichen Reaktion beteiligten Milchbestandteils. Diese Eigenschaft mit der Hitzeempfindlichkeit und der schon früher von anderen Autoren und neuerdings wieder von Bredig und Sommer nachgewiesenen Empfindlichkeit gegen Enzymgifte lassen nicht mehr daran zweifeln, daß wir es bei der FM-Reaktion der frischen Milch mit einer typischen Enzymreaktion zu tun haben.

Man braucht sich selbstverständlich dieses Enzym nicht als besonderen, neben den bisher bekannt gewordenen Milchbestandteilen befindlichen Stoff

vorzustellen. Die in Frage stehende katalytische Wirkung könnte sehr wohl an eine besondere Struktur der Molekülkomplexe irgendeines der bekannten Milchbestandteile (z. B. nach Orla-Jensen die Hülle der Fettkügelchen) gebunden sein, eine Struktur, die wahrscheinlich schon in der Natur des Milchsekretionsvorganges begründet ist und durch höhere Wärmegrade (70—80°) eine mehr oder weniger tiefgehende Störung erleidet. Diese braucht aber nicht eine unter allen Umständen irreparable zu sein und es läßt sich denken, daß durch bestimmte chemische Agentien der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt werden könnte. In diesem Sinne wäre die Beobachtung von Paul H. Römer und Th. Sames, daß einer gekochten Milch die verloren gegangene Fähigkeit zur Auslösung der FM-Reaktion durch Zufügung einer frisch bereiteten verdünnten Ferrosulfatlösung teilweise wiedergegeben werden kann, nicht als berechtigtes Bedenken gegen die Natur der FM-Reaktion als einer Enzymreaktion anzuerkennen, um so weniger, als Ferrosalze in einem so kompliziert zusammengesetzten Gemisch, wie es die Milch darstellt, leicht selbst zu Reduktionen Anlaß geben könnten und Eisensalze überhaupt, bezw. Eisenverbindungen ganz allgemein im Gebiet der katalytischen Reaktionen eine hervorragende, wenn auch noch wenig geklärte Rolle zu spielen scheinen.

Mag man die FM-Reaktion nun als Wirkung eines besonderen chemischen Individuums oder eines bestimmten Zustandes eines vielleicht längst bekannten Milchbestandteils auffassen, so ist es jedenfalls berechtigt, von einer Enzymreaktion zu sprechen. Man hat das bei der FM-Reaktion Wirksame mit verschiedenen Namen belegt: Schardingerenzym, Aldehydkatalase, Aldehydreduktase, indirekte Reduktase. Unter Berücksichtigung des Umstandes, daß das Spezifische der Reaktion offenbar in einer enormen Beschleunigung der Reduktionskraft des Formaldehyds zu erblicken ist, wobei aber der Reduktion des zugesetzten Farbstoffes einerseits, eine Oxydation des Formaldehyds anderseits entspricht, schlägt R. Burri als unzweideutigste und am wenigsten präjudizierende Bezeichnung „Formaldehydase“ vor.

Die im allgemeinen entschieden zu wenig gewürdigte Frage des Verhaltens der Bakterien gegenüber dem FM-Reagens ist in vorliegender Arbeit ebenfalls untersucht worden. Auf Grund der Resultate einer die in Betracht kommenden Verhältnisse zusammenfassenden Versuchsanordnung, deren nähere Darstellung jedoch zu weit führen würde, ist die Forderung aufzustellen, daß die Prüfung der Milch auf ihren Gehalt an Formaldehydase, wenn sie einwandfrei sein soll, bei 70° und nicht bei 45—50° ausgeführt werden muß. Bedenken gegen die Zuverlässigkeit einer jeden bei 45—50° ausgeführten FM-Bestimmung sind gerechtfertigt, falls nicht gleichzeitig eine Kontrollbestimmung mit M-Lösung den Beweis liefert, daß eine wesentliche Beteiligung von reduzierenden Agentien (Bakterien und zellige Elemente wie Leukocyten), die mit dem Enzym Formaldehydase nichts zu tun haben, bei dem beobachteten Entfärbungsvorgang nicht in Frage kam.

Es wird in der vorliegenden Arbeit nicht behauptet, daß nun jede im Gebiet der reduzierenden Wirkung der Milch einwandfrei beobachtete Erscheinung befriedigend erklärt werden kann; jedoch ist alle Aussicht vorhanden, daß sich mit Hilfe der gewonnenen Resultate eine große Reihe von scheinbaren Widersprüchen, die selbst in neueren und neuesten Arbeiten auftreten, in einfacher Weise wird auflösen lassen und daß zukünftige Fehler in gleicher Richtung vermieden werden könnten. Autorreferat.

Kolkwitz, R. Das Plankton des Rheinstromes, von seinen Quellen bis zur Mündung. Ber. d. Deutschen Bot. Gesellsch., **30**, 1912, H. 2, S. 205.

In der vorliegenden Arbeit zeigt Verf., wie es mit Hilfe der von ihm ausgearbeiteten, einfachen quantitativen Planktonuntersuchungsmethoden möglich ist, sich innerhalb kurzer Zeit ein Bild von der biologischen Eigenart eines großen Wasserlaufes zu verschaffen. Die ca. 1230 km lange Strecke wurde in 10 Tagen untersucht. Während das Plankton des Hoch- und Oberrheins Gebirgsfluß- und Gebirgsseecharakter aufwies, zeigte das des Mittel- und Unterrheins mehr saproben Charakter; dieser zweite Abschnitt war stark durch das Mainwasser beeinflußt. Interessant ist der Verlauf der Kurve, die die Menge der an den verschiedenen Entnahmestellen aus 50 Liter absiebbaren Schwebestoffe veranschaulicht. Hinter jedem größeren Besiedelungszentrum steigt die Kurve deutlich an, um dann wieder allmählich abzusinken infolge der Freßtätigkeit der Rädertiere, Crustaceen, Insektenlarven usw. Eine Summierung der absiebbaren Substanzen findet nicht statt, ihre Menge ist kurz vor der Einmündung des Rheins in die Nordsee nicht größer als unterhalb der Einmündung des Mains. A. Müller.

Hoover, Ch. P. Testing the Bacterial Efficiency of Hypochlorite Treatment. Engineering Record, **65**, 1912, S. 16, 439.

Verf. beschreibt ein Verfahren wie es in den Kolumbus-Wasserwerken zur bakteriologischen Kontrolle des mit Chlorkalk behandelten Wassers Anwendung findet. Die bisher übliche Methode, die sich mit der Keimzählung und der Feststellung begnügte, ob in 1 ccm des behandelten Wassers noch Keime vorhanden sind, die bei 37° in Milchzucker-Galle Gasbildung hervorzurufen vermögen, ist Verf. zu oberflächlich.

Er gießt zunächst sofort nach der Entnahme des behandelten Wassers, dann nach 24- und 48stündigem Stehen mit 1 ccm desselben Gelatine- und Agarplatten, die bei 20° bezw. 37° C aufgehoben und nach 48 und 72 Stunden gezählt werden. Um über das Vorhandensein von Milchzuckervergärern Aufschluß zu erhalten, wird 1 ccm Wasser in ein Gärungsröhrchen mit Milchzucker-Galle übertragen und 48 Stunden bei 37° C gehalten, ein weiterer Kubikzentimeter wird in ein Gärungsröhrchen mit Dextrosebouillon gegeben und 24 Stunden bei 37° angereichert, schließlich werden noch 50 ccm Wasser mit 10 ccm einer konzentrierten Bouillon vermischt und ebenfalls 24 Stunden bei 37° C gehalten.

Ist nach 24 Stunden in dem Laktose-Gallenröhrchen kein Gas gebildet, so wird je 1 ccm aus der Mischung mit Dextrosebouillon und der mit Bouillon versetzten 50 ccm-Probe in Gärungsröhrchen mit Laktose-Galle übertragen und 48 Stunden bei 37° C gehalten. Verf. hat nämlich beobachten können, daß die Milchzucker-Galle vergärenden Organismen zuweilen durch die Chlorkalkbehandlung derart geschwächt sind, daß sie in der Milchzucker-Galle nicht direkt zur Entwicklung kommen, sondern erst, nachdem sie in gewöhnlicher Bouillon vorkultiviert worden sind. Auf den nach 24- und 48stündiger Inkubationszeit gegossenen Platten werden wesentlich höhere Keimzahlen erhalten, als in den sofort gegossenen Platten, besonders dann, wenn mehr als 0,75 Teile wirksamen Chlors auf 1 Million Teile Wasser angewendet wurden. Diese Erscheinung des Nachwachsens kann durch das Vorhandensein von Sporenbildnern, aber auch durch vegetative Formen bedingt werden; in jedem Falle ist es nach dem Verf. von Wichtigkeit, festzustellen, ob diese Erscheinung zu beobachten ist, bejahendenfalls muß dann weiter ermittelt werden, ob unter den nachgewachsenen Kolonien pathogene Keime vorhanden sind. A. Müller.

van Laer, Norbert. Investigations on Bacillus subtilis in Relation to a new Microorganism in Brewing (Bacillus hordei). Journal of the Institute of Brewing, Vol. XIX, 1913, S. 4—20.

Ehe Henry van Laer im Jahre 1892 im Biere den von ihm genannten Saccharobacillus pastorianus nachgewiesen hatte, wurde dieser Organismus fehlerhaft mit dem Namen Bacillus subtilis bezeichnet. Später wurde von Adrian Brown mitgeteilt, daß die letztgenannte Bakterie ohne Bedeutung für die Bierfabrikation ist, weil sie sich in Würze oder Bier von normaler Azidität nicht entwickelt. Außerdem ist der Bacillus subtilis aërob, so daß man auch aus diesem Grunde es für unmöglich hielt, daß er beim Ausschluß freien Sauerstoffes im Bier gedeihen könnte.

Verf. hat aber gefunden, daß der B. subtilis, welcher nach Vincent daran gewöhnt werden kann, auch anaërob aufzutreten, im Biere ohne Sauerstoff leben kann und hier Sporen zu bilden imstande ist. Während seines Studiums dieser Bakterie fand Verf. auf Gerste einen Mikroorganismus, dessen Sporen sehr resistent waren, indem sie imstande sind, ein 5stündiges Kochen zu vertragen. Auf alter Gerste (aus dem Jahre 1885) war der Bacillus noch lebend. Dieser Organismus — vom Verf. B. hordei genannt — ist dem B. subtilis sehr ähnlich und wurde früher mit diesem verwechselt. Van Laer bringt Angaben über die Morphologie und Biologie dieses beweglichen, sporenbildenden Stäbchens, welches sich leicht nach Gram färbt. Die Optimaltemperatur für das Wachstum ist 27° C. Es gedeiht ebensogut als Aërobiont wie als Anaërobiont. Es wächst in ungehopfter, nicht aber in gehopfter Würze, dagegen im Bier; gibt Indolreaktion (was bei B. subtilis nicht der Fall ist). Sporen des B. subtilis werden in nicht gehopfter Würze

nach zweistündigem Kochen getötet, was mit Sporen des B. hordei nicht der Fall ist. Letzterer muß als ein Bierschädling betrachtet werden, weil er auf den Geschmack und Glanz des Bieres einen Einfluß hat; dasselbe ist, obwohl in geringerem Grade, mit B. subtilis der Fall. Nach dreimonatlicher Lagerung und Pasteurisation des Bieres bei 77° C während einer halben Stunde waren sowohl B. subtilis als B. hordei noch lebend.

Weil die Sporen von B. hordei häufig auf Gerste und Malz auftreten, wird eine Infektion leicht von der Mälzerei in die Brauerei übertragen werden können. Just. Chr. Holm.

Day, F. E. and Baker, Julian L. A Bacterium causing Ropiness in Beer. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 36, 1913, S. 433—438.

Die Verff. geben zuerst eine kurze Literaturübersicht über die Arbeiten, welche von schleimbildenden Organismen handeln, die teils im Brot, Milch, Zucker, Wein und Most, teils in der Lohbrühe, in pharmazeutischen Infusen und im Biere vorkommen können.

Es wurden eine Anzahl von Proben fadenziehender Biere aus drei verschiedenen Brauereien untersucht und die darin auftretenden Organismen isoliert. Diese, welche auf verschiedenen Nährböden kultiviert wurden, zerfielen in zwei Gruppen: A., Bakterien, welche Alkohol zu Essigsäure oxydieren und in Medien, welche Kohlenhydrate enthalten, kein Gas entwickeln, und B., die Alkohol nicht oxydieren, wohl aber in Kohlenhydraten Gas entwickeln. Die Bakterien, welche zur Gruppe A gehören, bestehen aus Kurzstäbchen, meistens zu zweien verbunden; einzelne Bakterien sowie Ketten kommen aber auch vor. Keine Sporenbildung. Sie färben sich schwach nach Gram. Falls sie in Flüssigkeiten, die Alkohol enthalten, gezüchtet werden, bilden sie eine dünne Haut, und der Alkohol wird zu Essigsäure, die Glukose zu Glukonsäure oxydiert. Die Optimaltp. für das Wachstum liegt zwischen 20 bis 25° C. (Auf einer beigegebenen Tafel sind die kulturellen Charaktere der betreffenden Organismen angegeben.) Sie sind alle als eine Art mit Varietäten zu betrachten. Die Art ist dem B. albuminosum (Zeidler und Lindner) sehr ähnlich, weicht aber durch ihr Wachstum auf festen Substraten von dieser ab. Verff. nennen sie B. aceti viscosum; sie trat in allen englischen Bierproben, welche fadenziehend waren, auf. Wenn die isolierten Organismen kräftig sind, rufen sie alle — sehr leicht in Stout, schwieriger aber in Ale — eine Schleimbildung hervor. Die Organismen überleben die Gärung. Falls die Luft während der Entwickelung dieser Bakterie Zutritt hat, wird viel Säure — in einigen Fällen 3% Essigsäure — gebildet, in welchem Falle der Schleim verschwindet; man wird kein fadenziehendes Bier mit mehr als 1,5% finden können. Eine Variation in der Hopfengabe oder in der Menge von Kohlenhydraten sowie von gelöstem Protein innerhalb der üblichen Grenzen hat keinen Einfluß auf das Wachstum des B. aceti viscosum. Die Bakterien, welche zur Gruppe B gehören, bestehen aus Kurzstäbchen, die sich nach

Gram gut färben und alle verwendeten Substrate fadenziehend machen. Der Schleim wird aus Proteinstoffen gebildet und ist von der Anwesenheit der Kohlenhydrate, sowie der mehrwertigen Alkohole nicht abhängig; die letzteren werden unter Bildung von Kohlensäure und Wasserstoff zersetzt. Die der Abhandlung beigegebene Tafel zeigt, daß man es mit zwei verschiedenen Bakterienarten zu tun hat. Falls sie direkt ins Bier eingeführt werden, findet keine Infektion statt; in Würze eingeführt, können sie die Gärung überleben. Nur dann, wenn sie in reichlicher Menge eingeführt wurden, trat bei einer Form (Nr. VIII) Schleimbildung im Bier auf. Diese Organismen sind von B. aceti viscosum verschieden und gehören vielleicht unter die von Zikes beschriebenen Wasserbakterien. Just. Chr. Holm.

Sopp, Olav Johan-Olsen. Monographie der Pilzgruppe Penicillium mit besonderer Berücksichtigung der in Norwegen gefundenen Arten. (23 Tafeln und 1 Fig. im Text.) I. Videnskabs Selskabets Skrifter I Mathem.-Nat. Klasse, Kristiania 1912, S. 1—205.

Penicillien treten in Norwegen als spezielle Erdbodenpilze auf. Sie sind besonders in nicht angebautem Boden und vor allem in Waldböden zu finden. Sie haben Bedeutung für die Bildung des Humus, speziell des Waldhumus. Sie wachsen besonders gut bei niedrigen Temperaturen, einige auch bei 40—45° C. Es gibt auch welche, die sogar nur bei Körpertemperatur wachsen. Außerhalb des Waldes sind noch zwei Fundorte zu erwähnen, nämlich feuchte Kellerräume und Küchenabfallhaufen (Kehrichthaufen).

Verf. gibt zunächst die Morphologie der verschiedenen Gattungen. Es treten sowohl typische Oidien, wie Chlamydosporen (bei Acaulium) auf; Ascusfrüchte (Sclerotien oder Perithecien) bilden sich schwieriger in Reinkulturen, als wenn der Pilz mit anderen Schimmelpilzen zusammen wächst. Bei der Physiologie wird die Bedeutung der Pilzgruppe für die Gärungsindustrie erwähnt. Die Enzymwirkungen (Pepsin, Trypsin, Cytase, Lipase, Diastase, Katalase, Invertase), sowie die verschiedenen Gärungen: Alkoholgärung, Zitronensäure-, Oxalsäure- und Buttersäuregärung werden besprochen. Untersuchungsmethoden und Arbeitsverfahren werden ausführlich behandelt; schließlich gibt Verf. die Systematik der Pilzgruppe. Folgende Gattungen wurden beschrieben: Daktylomyces, Acaulium, Stysanus, Gliocladium und Penicillium, die letztere mit den Untergattungen: Citromyces, Corollium und Aspergillopsis. Just. Chr. Holm.

Hefegärung und Wasserstoff.

Von **Sergius Lvoff.**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der K. Universität St. Petersburg.)

I. Über Chromogene.

Der aus pflanzlichen Organen (Wurzeln der Weißrübe, Fruchtkörpern des Champignons) ausgepreßte Saft enthält chemisch bis jetzt unbekannte Substanzen (sog. Chromogene), die an und für sich farblos sind, aber unter dem Einfluß des Sauerstoffes der Luft schnell schwarze Färbung annehmen: wenn der Saft umgeschüttelt wird oder nur einfach an der Luft steht, verliert er seine anfängliche helle Färbung, wird nach und nach dunkler und erhält zuletzt eine intensiv schwarze Farbe. In einer Arbeit, die wir gemeinsam mit Herrn Professor W. Palladin ausgeführt haben[1], wurde festgestellt, daß diese schwarze Färbung allmählich verschwindet und der Saft sich wieder aufhellt, wenn man ihm eine gewisse Menge aktiver Hefe zusetzt und das ganze Experiment in sauerstofffreier Luft (im Wasserstoffstrom) ausführt. Bis zum Sieden erhitzte Hefe verliert die Fähigkeit diesen Vorgang auszulösen. Der Wasserstoff an und für sich ist auch nicht imstande, den Saft farblos zu machen. Daraus folgt, daß das wirksame Agens, welches die Aufhellung des Saftes hervorruft, die Hefe selbst und ihre Fermente sind.

Der Vorgang der Aufhellung des Saftes in Gegenwart von Hefe erinnert sehr an den ähnlichen Vorgang mit dem chemisch bekannten Farbstoffe Methylenblau; wie bekannt, verliert dieser Farbstoff in Gegenwart von Hefe langsamer oder schneller seine Färbung in demselben Maße, in dem das Molekül des Methylenblaus sich mit zwei Atomen Wasserstoff verbindet: $M + 2H = MH_2$ (Leukoverbindung). Die Entfärbung des Methylenblaus wird der Einwirkung der Hefenreduktase

[1]) W. Palladin und Sergius Lvoff, Über die Einwirkung der Atmungschromogene auf die alkoholische Gärung, Zeitschrift für Gärungsphysiologie, Bd. 2, 1913, S. 326.

zugeschrieben. Man muß annehmen, daß die Aufhellung der pflanzlichen Säfte bei unseren Versuchen auch zu der Reihe der Reduktionsvorgänge, die von diesen Fermenten hervorgerufen werden, gehört.

Aus der Chemie der Farbstoffe wissen wir, daß die weitaus größere Mehrzahl derselben ihre Pigmenteigenschaften der Anwesenheit einer doppelten Bindung in ihrem Moleküle verdankt (natürlich im Zusammenhange mit einigen anderen Eigentümlichkeiten ihrer Struktur): dabei ruft die Zugesellung zweier Atome Wasserstoff an Stelle dieser doppelten Bindung das sofortige Verschwinden der Pigmenteigenschaften und den Übergang des Farbstoffes in die entsprechende Leukoverbindung hervor[1]).

Die Übereinstimmung dieser Tatsachen macht es sehr wahrscheinlich, daß die Analogie zwischen den pflanzlichen Pigmenten unserer Versuche und den Farbstoffen sich nicht nur auf die qualitative Reaktion in Gegenwart von Hefe beschränkt, sondern daß ihr auch eine innere Analogie in der Struktur entspricht, mit anderen Worten, daß die Chromogene Leukoverbindungen sind, die vermittels der Zugesellung von zwei Atomen Wasserstoff aus Pigmenten entstehen[2]).

$$R + 2H = RH_2.$$

Folglich haben wir den Vorgang der Entfärbung des Saftes als einen Reduktionsvorgang auf Kosten des aktiven Wasserstoffes anzusehen. Das Vorhandensein dieses aktiven Wasserstoffes in dem gärenden Medium wird gewöhnlich als das Ergebnis der Tätigkeit eines besonderen Fermentes, der Reduktase. aufgefaßt. Im weiteren haben wir durch eine Reihe von Versuchen gezeigt, daß der Prozeß der Entfärbung des Saftes (d. h. der Prozeß der Verwandelung des schwarzen Pigmentes in eine Leukoverbindung), der in dem gärenden Medium vor sich geht, deprimierend auf die Alkoholgärung einwirkt: unter diesen Bedingungen findet eine bedeutende Herabsetzung der Mengen beider Komponenten der Gärung, sowohl der Kohlensäure als auch des Alkohols statt, und zwar in äquivalentem Maße. So hat z. B. die Portion, in der im Laufe des Gärungsprozesses eine energische Reduktion der vorher angehäuften Pigmente vor sich ging, 251,2 mg CO_2 und dementsprechend 262 mg Alkohol ausgeschieden: das Verhältnis glich folglich dem Verhältnis von 100 : 104. Eine parallele Portion, in der dank den anaeroben Bedingungen

[1]) Siehe z. B. R. Nietzki, Chemie der organischen Farbstoffe, Berlin 1906.

[2]) W. Palladin hat schon früher (W. Palladin, Über die Bedeutung der Atmungspigmente in den Oxydationsprozessen der Pflanzen und Tiere, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 91) gerade diese Anschauung über die Chromogene entwickelt, — jetzt findet sie in der von uns festgestellten biochemischen Reaktion mit der Hefe ihre experimentelle Bestätigung.

des Versuches die Chromogene sich nicht in Pigmente verwandeln konnten und eine Reduktion der letzteren nicht stattfand, schied 561,6 mg Kohlensäure und 595 mg Alkohol aus: das Verhältnis war hier also gleich 100 : 106[1]).

Dieses Ergebnis haben wir der Tatsache zugeschrieben, daß der zur Reduktion der Pigmente nötige Wasserstoff von ihnen aus dem gärenden Medium entnommen wird, wo er zum normalen Verlauf der Alkoholgärung nötig ist.

So wahrscheinlich uns auch gerade diese Auffassung der Chromogene und ihrer Einwirkung auf die Alkoholgärung vorkam, unsere Überlegungen bewahrten doch einen gewissermaßen hypothetischen Charakter: die pflanzlichen Säfte stellen ein sehr komplexes biochemisches Medium vor, und man kann nicht immer mit Bestimmtheit behaupten, daß es gelungen wäre, die Einwirkung dieses oder jenes Faktors abzugrenzen.

Deshalb hielt ich es für wesentlich wichtig, unsere Versuche mit den chemisch bekannten Substanzen zu wiederholen, mit denen wir die Chromogene verglichen haben, vor allem mit Methylenblau. Von der Ähnlichkeit der qualitativen Reaktion in Gegenwart von Hefe war schon früher die Rede. Jetzt war es wichtig, sich davon zu überzeugen, ob die Reduktion dieser Farbe in Gegenwart von Hefe denselben Effekt auslöst — eine Deprimierung der Alkoholgärung hervorruft. Hier wollen wir einige Versuche aus einer Reihe ebensolcher anführen, die vollständig ähnliche Resultate ergaben.

Die Methodik der Versuche war dieselbe wie in der früheren Arbeit[1]).

Versuch I: Es wurden im Luftstrom zwei Portionen aufgestellt: I. Die Kontrollportion mit 100 ccm Wasser + 5 g Hefanol + 20 g Saccharose + 2,5 ccm Toluol. II. Die Versuchsportion: dasselbe + 421 mg Methylenblau (nach Ehrlich).

In I. geht die Gärung normalerweise vor sich, in II. wird sie durch den ununterbrochen verlaufenden Reduktionsvorgang des Methylenblaues kompliziert. Der Versuch dauerte 15 Stunden.

	Stunden	CO_2 in mg	Depression	Alkohol in mg	$CO_2 : CH_3CH_2OH$
I. Portion . . .	15	251	0,095°	226	100 : 90
II. Portion . . .	15	136	0,055°	131	100 : 96
II. im Prozentverhältnis zu I. . .	—	54 %	—	58 %	—

[1]) W. Palladin und S. Lvoff, a. a. O.

Versuch II: I. Portion: 100 ccm Wasser + 5 g Trockenhefe nach Lebedew + 20 g Saccharose + 2,5 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 525 mg Methylenblau.

Stunden	CO_2 in mg 14	5	24	Im ganzen	Depression	Alkohol in mg	$CO_2 : CH_3CH_2OH$
I. Portion .	457,7	101,4	125,3	684,0	0,27°	643	100 : 94
II. Portion .	241,8	65,1	44,2	351,1	0,135°	321	100 : 91
II. im Prozentverhältnis zu I.				51 %	—	49 %	—

Versuch III: I. Portion: 100 ccm Wasser + 10 g derselben Hefe + 20 g Saccharose + 2,5 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 1 g Methylenblau.

Stunden	CO_2 im mg $2^1/_2$	2	2	17	28	Im ganzen	Bestimmung des Alkohols: Depression	Alkohol in mg	$CO_2 : CH_3CH_2OH$
I. Portion	81,3	185,3	210	801,3	627,7	1905,6	0,74°	1762	100 : 92
II. Portion	30	55,7	80	552	491,6	1209,3	0,48°	1142	100 : 95
II. im Prozentverhältnis zu I.						64 %	—	65 %	—

Aus diesen Versuchen ist die Analogie zwischen der Wirkung des Methylenblaues und der Wirkung der pflanzlichen Pigmente auf die Alkoholgärung deutlich zu ersehen: sowohl in ersterem als auch im zweiten Falle wird eine Herabsetzung der Ausscheidung beider Gärungskomponenten, und zwar in äquivalentem Maße, beobachtet. Diese Reihe sowohl quantitativer als auch qualitativer Analogien gibt uns die Berechtigung, einige Überlegungen über die wahrscheinliche chemische Struktur der pflanzlichen Pigmente und Chromogene auszusprechen:

1. Die pflanzlichen Pigmente, mit denen wir zu tun hatten, sind Körper, die in ihrem Molekül wahrscheinlich eine doppelte Bindung enthalten, an deren Stelle zwei Atome Wasserstoff treten können; dabei entsteht aus dem Pigment eine entsprechende Leukoverbindung.
2. Der molekulare Wasserstoff ist nicht imstande, die doppelte Bindung zu lösen, im Wasserstoffstrom entfärben sich die Pigmente nicht.
3. Unter Einwirkung der spezifischen Aktivatoren des Wasserstoffes, — z. B. der Hefenreduktase, — geht dieser Prozeß mit Leichtigkeit vor sich und der Saft entfärbt sich.

4. In der Leukoverbindung, dem Chromogen, ist der Wasserstoff locker gebunden und wird vom molekularen Sauerstoff leicht mit Beihilfe der Oxydasen bis zum Wasser verbrannt.

Schon bei den ersten der oben beschriebenen Versuche wird meine Aufmerksamkeit von folgender Tatsache in Anspruch genommen: die Fixation des beweglichen Wasserstoffes, die dank der Reduktion des Methylenblaus zu einer Leukoverbindung vor sich geht, wird von einer scharf ausgeprägten Herabsetzung des Gärungsvorganges begleitet. Die Reduktion des Methylenblaus in dem gärenden Medium wird aber gewöhnlich der Einwirkung des Fermentes Reduktase[1]) zugeschrieben, der Gärungsprozeß wird von der Einwirkung der Zymase hervorgerufen. Es entsteht sofort der Gedanke an den engen Zusammenhang beider Vorgänge. Diesen Zusammenhang aufzuklären habe ich mir zum Ziel gesetzt.

II. Die Vergärung des Zuckers.

Die Reduktasen, das sind Fermente, die den Wasserstoff aktivieren und unter seiner Mitwirkung Reduktionserscheinungen hervorrufen, haben schon seit langem die Aufmerksamkeit der Forscher in Anspruch genommen. Zahlreiche Einzelbeobachtungen haben, indem sie sich allmählich anhäuften, die große Verbreitung der Reduktasen sowohl im Tier- als auch im Pflanzenreiche festgestellt. Es gibt tatsächlich fast kein einziges Organ, kein einziges Gewebe, in dem man nicht in dieser oder jener Form die Existenz von Reduktionsprozessen beobachten könnte. Ich werde nicht alle die Arbeiten aufzählen, die der Feststellung neuer experimenteller Ergebnisse auf diesem Gebiete gewidmet sind, sondern nur an dem Beispiel der Hefe zeigen, wie verschiedenartig die von ihr hervorgerufenen Reduktionsvorgänge sind.

Die Hefe ist imstande, Schwefel bis zum Schwefelwasserstoff („Philothion Rey-Pailhade") zu reduzieren[2]), Sulfate in Sulfide, Nitrate in Nitrite zu verwandeln, Selen und Tellur aus ihren Sauerstoffverbindungen auszuscheiden, Farbstoffe (Methylenblau, schwefelsaures Indigo) in Leukoverbindungen zu reduzieren: unlängst wurde darauf hingewiesen,

[1]) Buchner, Zymasegärung, S. 341 u. ff. (M. Hahn, Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Hefe).

[2]) Beobachtungen von J. Dumas (Ann. de Chemie et de Physique, 5. Serie. t. III, p. 92) und besonders von Rey-Pailhade (Sur un corps d'origine organique hydrogénant le souffre à froid. Compt. rend. Bd. 106, 1888, S. 1683); geschichtlich sind sie deshalb von Wichtigkeit, weil sie den Anstoß zum eifrigeren Studium der Reduktasen gaben.

daß unter Einwirkung der Hefe das Furfurol auf $^2/_3$ in Furilalkohol verwandelt, d. h. reduziert wird[1]) usw. usw. Nicht alle diese Tatsachen haben vom biochemischen Standpunkte aus die gleiche Bedeutung und nicht allen kann man mit Bestimmtheit einen enzymatischen Charakter zuschreiben. In dieser Frage herrscht keine vollständige Einigkeit. In der Mehrzahl der Fälle werden aber die beobachteten Reduktionserscheinungen auf die Einwirkung des einen oder des anderen spezifischen Fermentes zurückgeführt. Philothion, Hydrogenase, Reduktase, Perhydridase, — das alles sind Benennungen von Fermenten, denen in den Reduktionsvorgängen eine wirksame Rolle zugeschrieben wurde. Hierher gehört auch das Schardinger-Enzym, das der frischen Milch die Fähigkeit gibt, in Gegenwart von Aldehyden Methylenblau zu reduzieren[2]). Schon dieses Chaos von Benennungen, dieser Überfluß an parallelen Bezeichnungen allein zeugt einerseits von dem großen Interesse für Reduktionserscheinungen, andererseits von dem Mangel an allgemein anerkannten leitenden Grundsätzen auf diesem Gebiete. In der letzten Zeit aber machen sich Bemühungen bemerkbar, diese vereinzelten Tatsachen zu einem einheitlichen Ganzen zu verbinden, ihnen ein gemeinsames Fundament zu geben. Unter diesen Bemühungen sind besonders zwei Theorien bemerkenswert, die sich voneinander ziemlich scharf unterscheiden. Die eine, rein chemische Theorie von Heffter und seinen Schülern[3]) spricht den Reduktionserscheinungen jeden fermentativen Charakter ab. Die andere, biochemische Theorie von Bach[4]) ist reich an scharfsinnigen Vergleichen und kühnen Analogien; sie verficht den enzymatischen Charakter der Reduktionserscheinungen und vergleicht sie dabei mit der eigentümlichen Gruppe katalytischer Reaktionen, die sich in Gegenwart von Palladium vollziehen.

Nach der Theorie von A. Heffter verdanken die verschiedenen Substanzen tierischer Abkunft ihre Reduktionseigenschaften der Anwesenheit von Stoffen, die eine Sulfhydrylgruppe enthalten: diese Sulfhydrylgruppe (R-SH) verliert sehr leicht ihren Wasserstoff im statu nascendi.

---

[1]) Lintner und Liebig, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 72, 1911, S. 449.

[2]) Trommsdorf, Centralbl. f. Bakter., Bd. 49, 1909, S. 291.

[3]) A. Heffter, Die reduzierenden Bestandteile der Zellen, Medizin.-naturwiss. Archiv, Bd. 1, 1908, S. 81. — A. Heffter, Gibt es reduzierende Fermente im Tierkörper? Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1908, Suppl., S. 253. — Eine übersichtliche Darstellung der genannten Frage in dem Artikel von Thorsten Thunberg, Die biolog. Bedeutung der Sulfhydrylgruppe, Ergebn. d. Physiol., Bd. 11, 1911, S. 328.

[4]) A. Bach, Zur Kenntnis der Reduktionsfermente, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, S. 443; Bd. 33, 1911, S. 282; Bd. 38, 1912, S. 154. — Siehe auch A. Bach, Der Chemismus der Atmungsprozesse, St. Petersburg, 1912 (russisch).

Die Anwesenheit des locker gebundenen, leicht beweglichen Wasserstoffes bedingt nun gerade, nach der Meinung von Heffter, die Reduktionserscheinungen. Das Prototyp solcher die Sulfhydrylgruppe enthaltender Substanzen ist das Cystein, welches durch Abspaltung des Wasserstoffes in das Bisulfid-Cystin übergeht. Es gelang Heffter tatsächlich mit dem Präparate Cystein in vitro die Mehrzahl der Reduktionsreaktionen, die gewöhnlich der Reduktase zugeschrieben werden (unter anderem die Entfärbung von Methylenblau) auszulösen; gleichzeitig gelang es ihm, mit Hilfe der spezifischen Reaktion für die SH-Gruppe ihre Anwesenheit fast in all den Geweben und Organen nachzuweisen, in denen die Anwesenheit der Reduktase vermutet wurde. Hieraus eben zieht nun Heffter den Schluß, daß es gar keine Reduktase als Ferment gibt und daß sich in den hierher gehörenden Fällen einfach eine ziemlich elementare chemische Reaktion vollzieht. „Will man die reduzierenden Eigenschaften der Gewebe als Wirkungen von Reduktasen oder Hydrogenasen auffassen, so kann man das Cystein geradezu als das Modell eines reduzierenden Fermentes betrachten“ [1]. So verführerisch es auch scheint, diese rein chemische Deutung einer ganzen Gruppe biologischer Vorgänge anzunehmen, immerhin muß man gestehen, daß diese Theorie die beobachteten Tatsachen, die ihrem Wesen nach sehr interessant sind, zu sehr vereinfacht, ihnen eine allzu allgemeine Deutung gibt.

Vor allem fällt der qualitative Unterschied zwischen der Wirkung der Sulfhydrylgruppe und der Reduktase in die Augen. Heffters rein chemische „Reduktasen“ wirken viel schwächer und viel langsamer als die Reduktasen biologischer Herkunft. Um ihre Wirkung gleichwertig zu machen, muß man den ersteren Katalysatoren, z. B. Eisenchlorid, zusetzen.

Straßner [2], der sonst die Anschauungen Heffters teilt, ist auch genötigt festzustellen, daß in reduzierenden Geweben Katalysatoren vorhanden sind, die die Wirkung der SH-Gruppe beschleunigen. Diese Zuhilfenahme von spezifischen Katalysatoren (Reduktasen?) kann nur als eine Konzession zugunsten der Enzymtheorie angesehen werden.

Bei der Deutung der Reduktionserscheinungen kann man außerdem jetzt, besonders nach den Arbeiten von Bach, das Schardinger-Enzym nicht außer acht lassen. Dieses Enzym gehört auch zu den Reduktasen, ist aber nur in Gegenwart von Aldehyden wirksam und hat in dieser Beziehung gar keinen Zusammenhang mit der Sulfhydrylgruppe.

---

[1] A. Heffter, Medizin.-naturwiss. Archiv, a. a. O.

[2] W. Straßner, Die reduzierenden Wirkungen des Gewebes, Biochem. Zeitschr. Bd. 29, 1910, S. 295.

Aus den weiter beschriebenen Versuchen endlich ist der enge Zusammenhang zwischen den Gärungserscheinungen und den Reduktionsprozessen vollständig klar: vom Standpunkte der Heffterschen Theorie ist dieser Zusammenhang unerklärlich, oder man müßte die vollständig unwahrscheinliche Voraussetzung machen, daß die Sulfhydrylgruppe im Prozesse der alkoholischen Spaltung der Hexose eine gewisse Rolle spielt.

Die biochemische Theorie von Bach nimmt eine ebensolche Zusammensetzung der Reduktasen wie der Oxydasen an: letztere bestehen aus dem wirksamen Ferment, der Peroxydase, und dem Coferment Oxygenase; die Reduktasen bestehen aus dem aktiven Ferment, der Perhydridase (mit dem Schardinger-Enzym identisch) und dem entsprechenden Coferment (z. B. dem Aldehyden). In den Oxydasen nimmt das Coferment molekularen Sauerstoff an sich, aktiviert letzteren zum Zwecke der inneren Oxydation und bildet auf diese Weise die Grundlage der aeroben Vorgänge, die reine Oxydationserscheinungen sind. In den Reduktasen verbindet sich das Coferment mit dem Sauerstoff des Wassers, aktiviert dabei den Wasserstoff zum Zwecke der inneren Reduktion und bildet auf diese Weise die Grundlage der anaeroben Vorgänge, bei denen Oxydation und Reduktion nebeneinander und streng parallel verlaufen. Bach[1]) gelang es außerdem, eine rein chemische Reaktion (Oxydation der hypophosphorigen Säure) ausfindig zu machen und zu studieren, bei der die Oxydation und Reduktion auf Kosten des Wassers unter der Einwirkung des die Rolle eines Katalysators spielenden Palladiums, des Analogons der Perhydridase, vollständig parallel verlaufen.

In der neuesten Zeit hat Wieland[2]) eine ganze Reihe analoger Reaktionen studiert, bei denen die Oxydation in Abwesenheit von Sauerstoff, d. h. unter anaeroben Verhältnissen zustande kommt; dabei ist aber die Anwesenheit eines Körpers, der den parallel sich befreienden Wasserstoff fixieren (d. h. reduziert werden) könnte, unumgänglich notwendig.

Diese bemerkenswerten Reaktionen[3]) erinnern tatsächlich an die Reaktionen, die mit der Wirksamkeit der Reduktase verbunden sind.

---

[1]) A. Bach, Ber. d. D. chem. Gesellsch., Bd. 42, 1909, S. 4463.

[2]) H. Wieland, Ber. d. D. Chem. Gesellsch., Bd. 45, 1912, S. 484, 679, 685, 2606. Viel früher hat A. Faworsky, Untersuchungen über die isomorphen Verwandlungen in der Reihe der Karbonilverbiudungen usw., 1895 (russisch), eine Reihe Reaktionen studiert, die ihrem Wesen nach den obengenannten vollständig analog sind, aber zu der Zeit nicht über die Grenzen des Gebietes der Chemie bekannt wurden.

[3]) Auf die Bedeutung der Arbeiten von Wieland für die Biologie hat unter anderen W. Palladin, Biochem. Zeitschr., Bd. 49. 1913, S. 381 hingewiesen.

Schon aus dieser Charakteristik der Reduktasen ist klar zu ersehen, wie wichtig sie für das Verständnis der Anaerobiose sind, die die Grundlage der wichtigsten biologischen Vorgänge, u. a. des Prozesses der Alkoholgärung, ist. Die Gärung ist ein anaerober Vorgang — das ist schon seit Pasteur bekannt: es ist außerdem bekannt, daß seine Endprodukte oxydierter Kohlenstoff (in Form von CO_2) und reduzierter Kohlenstoff (in Form von $CH_3 \cdot CH_2OH$) sind. Nach Entdeckung der Zymase wurde durch direkte Versuche bewiesen, daß die Zymase auch außer der lebenden Zelle, sowohl in Gegenwart, als auch in Abwesenheit von Sauerstoff, ganz gleichmäßig arbeitet, d. h. sich zu letzterem völlig indifferent verhält[1]. Auf diese Weise ist für den Chemismus der Gärung folgendes kennzeichnend: 1. der anaerobe Verlauf des Vorganges und 2. das gleichzeitige Vorhandensein von Oxydations- und Reduktionsprozessen: d. h. gerade die Eigentümlichkeiten, die nach der Theorie von Bach die Wirksamkeit der Reduktasen kennzeichnen.

Diese Tatsache konnte natürlich nicht unbeachtet bleiben und trotz der Verschiedenheit der Umrisse, die zur Erklärung des Chemismus der Alkoholgärung aufgestellt wurden, enthalten alle, schon von Baeyer angefangen[2], die gleiche, ihnen allen gemeinsame Idee — alle erkennen die Notwendigkeit an, den Prozeß der Spaltung der Hexose als einen doppelseitigen Prozeß anzusehen, der aus den parallel verlaufenden, chemisch einander entgegengesetzten Vorgängen der Oxydation und Reduktion besteht. die sich nur auf verschiedene Teile eines und desselben Moleküls beziehen. Diese Bipolarität der Reaktion bildet gerade den fast jedem Gärungsschema gemeinsamen Gedanken; andererseits aber bildet dieselbe Bipolarität das Wesen der Reaktion, in deren Brennpunkt als wirksames Agens die Reduktase oder ihr chemisches Analogon, das Palladium, steht.

Bei dieser nahen Verwandtschaft der Ideen, die die Grundlage der Vorstellung vom Wesen des Gärungsvorganges und des Reduktionsprozesses bilden, kann es sogar verwundern, daß die Reduktase verhältnismäßig vor gar nicht langer Zeit erst als der wirksame Faktor im Gärungsprozesse anerkannt wurde.

Im Jahre 1897 hat Hahn[3] vermittels einer ganzen Reihe von Versuchen mit dem Buchnerschen Hefenpreßsafte den fermentativen

---

[1] Gromow und Grigoriew, Die Arbeit der Zymase und der Endotryptase in den abgetöteten Hefezellen, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 42, 1904, S. 299.

[2] Baeyer, Ber. d. D. Chem. Gesellsch., Bd. 3, 1870, S. 74.

[3] E. Buchner (und Hahn), Zymasegärung, S. 344.

Charakter der Reduktion des Methylenblaus festgestellt und dabei auf den bemerkenswerten Parallelismus in der Schwächung der Energie der Zymase und Reduktase hingewiesen. Diese Beobachtungen bewogen ihn, die Existenz der Reduktase als eines besonderen Fermentes zu bezweifeln.

Der Gedanke von dem aktiven Anteile der Reduktase an den Gärungsprozessen wurde, wenn ich mich nicht irre, in bestimmter Form zum ersten Male im Jahre 1904 von Grüß ausgesprochen. Er hat vermittels direkter Versuche nachgewiesen, daß die Reduktion der Schwefelblüte zu SH_2, die von der Hefehydrogenase hervorgerufen wird, von einer Verminderung der Ausscheidung von Alkohol begleitet wird, weil der zum normalen Verlauf des Gärungsprozesses nötige Wasserstoff künstlich abgeführt wird[1]. Im Jahre 1908 hat W. Palladin auf Grund seiner Versuche über die Reduktion von Natriumselenit und Methylenblau sich nicht weniger bestimmt für die aktive Rolle der Reduktase im Gärungsprozesse ausgesprochen[2]. Später hat Palladin im Zusammenhange mit seiner Theorie der Atmungschromogene diesen Gedanken weiterentwickelt und ihn zur Grundlage seiner Anschauungen über das Wesen der Gärungs- und Atmungsprozesse gemacht[3]. In den letzten Arbeiten von S. Kostytschew[4] und A. Lebedew[5] bildet die Idee von der Reduktase, die als wirksames Agens der Alkoholgärung aufgefaßt wird, die Grundlage der von ihnen aufgestellten Schemata: besonders prägnant ist diese Idee im Schema von S. Kostytschew durchgeführt; dieses Schema hat auch in bedeutendem Maße als Stützpunkt für meine Arbeit gedient[6].

---

[1]) J. Grüß, Untersuchungen über Atmung und Atmungsenzyme der Hefe, Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen, Bd. 27, 1904, S. 686.

[2]) W. Palladin, Beteiligung der Reduktase im Prozesse der Alkoholgärung, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 56, 1908, S. 81.

[3]) W. Palladin, Über die Bedeutung der Atmungspigmente in den Oxydationsprozessen der Pflanzen und Tiere, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 81.

[4]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 79, 1912, S. 143; Bd. 83, 1913, S. 93.

[5]) A. Lebedew, Ber. d. D. Chem. Gesellsch., Bd. 45, 1912, S. 3267; Biochem. Zeitschr., Bd. 46, 1912, S. 488; desgleichen A. Lebedew, Chemische Untersuchungen über die extracellulare Alkoholgärung, Novotscherkassk, 1913 (russisch).

[6]) Erst unlängst wurde die interessante Arbeit von Chowrenko, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 80, 1912, S. 253 veröffentlicht: der Verfasser hat die Reduktion von S bis zu SH_2 in sterilen Hefekulturen quantitativ bestimmt und gefunden, daß die Reduktion des Schwefels nach Beendigung der Hauptperiode der Gärung ihr Maximum erreicht.

Trotz der erhöhten Aufmerksamkeit, die in der letzten Zeit der Reduktase gewidmet wird, hat das Studium der Frage ihres Anteils an dem Gärungsprozesse in experimenteller Hinsicht seit den ersten Versuchen keine wesentlichen Fortschritte gemacht. Der Hauptgrund besteht, wie es mir scheint, gerade in der Bipolarität der Reaktion, weil diese Bipolarität den Vorgang bedeutend kompliziert. Aber schon die ersten älteren Versuche geben den direkten Hinweis, in welcher Richtung wir hier experimentell vorgehen müssen: es ist klar, daß wir auf irgend eine Weise die Bipolarität zerstören müssen, indem wir einen Teil der korrelativen Reaktionen von dem Grundvorgange ablenken. Auf diese Weise stellt das Experiment folgende Aufgabe: 1. die streng quantitative — in Gewichtseinheiten ausgedrückte — Bestimmung des Wasserstoffes, der künstlich aus dem gärenden Medium entfernt wird, und 2. die ebenso quantitative Bestimmung der Gärungsprodukte, deren Menge bei Zerstörung der natürlichen Bipolarität der Reaktion ein Defizit ergeben muß. Schon nach den ersten Versuchen war es für mich klar, daß man mit Hilfe von Methylenblau zur Bestimmung der quantitativen Verhältnisse zwischen diesen beiden parallelen Vorgängen gelangen kann.

Die Entfernung des Wasserstoffes wurde in meinen Versuchen vermittels des Methylenblaus rektif. (nach Ehrlich) oder des Kahlbaumschen Präparates „Zinkfreies Methylenblau“ (vom 14. Versuch an) bewerkstelligt. Beide Präparate gaben die gleichen Ergebnisse.

Die Versuche wurden unter streng anaeroben Verhältnissen durchgeführt, und zwar im Wasserstoffstrom, der im Apparat von Bardeleben (Wirkung von H_2SO_4 auf metallisches Zink) gewonnen wurde. Bei jedem Versuch wurden nicht weniger als zwei Portionen aufgestellt. Für jede Portion wurde eine streng bestimmte Menge Trockenhefe (Hefanol, Dauerhefe nach Lebedew) abgewogen oder vermittels einer Pipette eine bestimmte Quantität Saft, gewonnen durch Mazeration nach Lebedew, abgemessen. Alle Bedingungen waren für beide Portionen vollständig gleich, nur erhielt die Versuchsportion zum Unterschied von der Kontrollportion eine bestimmte, genau abgewogene Menge Methylenblau. Der Versuch wurde bis zu der vollständigen Entfärbung des Methylenblaus durchgeführt, das letztere ging dabei in die Leukoverbindung über und war dank den anaeroben Bedingungen des Versuches nicht imstande, wieder oxydiert zu werden.

Mit anderen Worten, die gegebene Menge Methylenblau konnte nur einmal reagieren und dabei eine streng bestimmte Menge Wasserstoff

binden. Es war nicht schwer, diese Menge nach den molekularen Korrelationen zu berechnen. Auf diese Weise wurde die Menge des Wasserstoffes, der im Verlaufe des Versuches aus dem gärenden Medium entfernt wurde, ganz genau — in Gewichtseinheiten — festgestellt. Zu der gleichen Zeit wurde vermittels der Pettenkofferschen Röhren die Kohlensäure der Gärung bestimmt[1]). Die Portion mit Methylenblau ergab immer weniger CO_2 als die Kontrollportion; nach diesem Unterschiede konnte man darüber urteilen, welche Quantität von Hexose auf den ersten Stufen der Spaltung stehen geblieben war. Da der Versuch sofort nach der Entfärbung des Methylenblaus abgebrochen werden mußte und dieses oft auf dem Höhepunkte der Gärung geschah, wenn die Ausscheidung der Kohlensäure sehr intensiv vor sich ging, so mußte sorgfältig darauf geachtet werden, daß im Momente der Unterbrechung des Versuches beide Portionen wirklich miteinander vergleichbar waren. Zu diesem Zwecke benutzte ich folgenden Handgriff: wenn die völlige Entfärbung eingetreten war, verschloß ich den Bardelebenschen Apparat und fuhr fort, vermittels des Aspirators das Gas durch die Röhren zu entfernen, bis die Ausscheidung von Blasen aufhörte; auf diese Weise erreichte ich den gleichen Grad des Innendruckes in beiden Kolben. Darauf trennte ich nun vermittels Klemmen die Gärungskolben von den mit Barytwasser gefüllten Röhren und ließ von neuem Wasserstoff einströmen; der letztere drang heftig in die Kolben ein, in denen der Druck niedrig war, und schüttelte dabei die Flüssigkeit stark um. Auf diese Weise wurde die Gefahr der Übersättigung mit CO_2 beseitigt. Diese Operationen wiederholte ich mehrmals bevor ich den Versuch abbrach. Den Alkohol bestimmte ich nach den entsprechenden Destillationen meistenteils vermittels der kryoskopischen Methode[2]), in einzelnen Fällen vermittels der Methode von Nicloux[3]).

Bei Aufstellung meiner Versuche stützte ich mich auf das unlängst von S. Kostytschew aufgestellte Schema[4]).

---

[1]) Die Methodik ist in der Arbeit von W. Palladin und S. Kostytschew, Methoden zur Bestimmung der Atmung der Pflanzen (Abderhalden, Handbuch d. biochem. Arbeitsmeth., Bd. 3, 1910, S. 479) beschrieben. Bei reichlicher Ausscheidung von CO_2 war ich sehr oft genötigt an den Pettenkofferschen Röhren noch einige Kolben mit Barytwasser anzubringen.

[2]) Ebenso wie in der früheren Arbeit von W. Palladin und S. Lvoff, a. a. O.

[3]) Beschrieben in dem Artikel von Pringsheim (Abderhalden, Handbuch d. biochem. Arbeitsmeth., Bd. 2, S. 7).

[4]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 79, 1912, S. 143.

Dieses Schema wird, wie bekannt, auf folgende Weise formuliert:

$$C_6H_{12}O_6 = 2CH_3CO\,COOH + R \begin{matrix} H \\ H \\ H \\ H \end{matrix} \quad . \quad . \quad . \quad . \qquad I.$$

$$2CH_3COCOOH = 2CH_3COH + 2CO_2 \quad . \quad . \quad . \quad . \qquad II.$$

$$2CH_3COH + R \begin{matrix} H \\ H \\ H \\ H \end{matrix} = 2CH_3CH_2OH + R \quad . \quad . \quad . \qquad III.$$

Die Grundidee des Schemas, die Idee von der Rolle der α-Ketonsäure und des Azetaldehydes in dem Prozesse der Alkoholgärung ging mich gar nichts an. Das Schema interessierte mich nur insofern, als es für mich zum Stützpunkte meiner vorläufigen Berechnungen dienen konnte, welche quantitativen Verhältnisse ich bei meinen Versuchen erwarten durfte. Aus der ersten Gleichung, die die Vorstellung des Autors von dem Anfangsstadium der Alkoholgärung ausdrückt, war zu ersehen, daß ein Hexosemolekül unter Einwirkung der Reduktase vier Atome Wasserstoff abgibt, die später (Gleichung III) zurückkehren, um den Prozeß der Spaltung der Hexose bis zu ihrem normalen Endprodukte — dem Alkohol — zu Ende zu führen. Die zweite Gleichung zeigt, daß die zweite Komponente — CO_2 — zu ihrer endgültigen Abspaltung keine Rückkehr des Wasserstoffes erfordert. Schon meine ersten Versuche hatten mich ebenso wie meine frühere Arbeit[1]) darauf vorbereitet, anzunehmen, daß dieser Wasserstoff, der zeitweilig von der Reduktase gebunden wird, zur normalen Ausscheidung beider Komponenten und nicht nur des Alkohols allein nötig ist. Deshalb habe ich, während ich meine Versuche anfing und mich auf die erste Gleichung des Schemas von S. Kostytschew stützte, folgende Voraussetzung gemacht: wenn ich die vier zeitweilig von der Reduktase fixierten Atome Wasserstoff ablenke und sie daran verhindere, weiter am Gärungsprozesse teilzunehmen, so wird dadurch ein Hexosemolekül, das schon in das erste Gärungsstadium hereingezogen war, von der weiteren Spaltung abgehalten und die Gesamtsumme der ausgeschiedenen Kohlensäure und des Alkohols wird gerade um zwei Moleküle des einen und des anderen Bestandteiles vermindert. Ein derartiges Hexosemolekül, das auf dem ersten Stadium seiner Spaltung stehen geblieben ist, werde ich der Kürze halber als ein inaktiviertes Molekül bezeichnen. Indem ich also aus dem gärenden Medium

---

[1]) W. Palladin und S. Lvoff, a. a. O.

vier Atome Wasserstoff entfernte, dachte ich ein Molekül Hexose zu inaktivieren[1]).

Es erwies sich, daß zur Inaktivierung eines Hexosemoleküls nur zwei Atome Wasserstoff abgelenkt werden mußten, was mit Hilfe nicht zweier, sondern bloß eines Methylenblaumoleküls bewerkstelligt wird. Dementsprechend enthielt die Grundproportion, die ich in jedem einzelnen Versuch zur Berechnung der Ergebnisse benutzte, folgendes Aussehen: 373,8 : 88 = M : α, d. h. α = M $\times$ 0.2354. M bedeutet hier die in jedem einzelnen Versuch genommene Quantität Methylenblau, α das voraussichtliche Defizit des CO_2 in der Versuchsportion im Vergleich zu der Kontrollportion. Die entsprechende Proportion zur Bestimmung des Quantums des abgelenkten Wasserstoffes hat folgendes Aussehen:

373,8 : 2,016 = M : α: α gleicht folglich M $\times$ 0,0054.

Versuch IV. Zu jeder von den zwei Portionen wurden auf 100 ccm Wasser 25 g Saccharose + 5 g Trockenhefe nach Lebedew[2]) + 2,5 ccm Toluol genommen. Der II. Portion wurden außerdem 556,3 mg Methylenblau zugesetzt. Nach etwas mehr als 24 Stunden trat vollständige Ent-

---

[1]) Ein Molekül Methylenblau entzieht dem gärenden Medium, indem es sich entfärbt, zwei Atome Wasserstoff ($M + H_2 = MH_2$). Folglich entziehen zwei Moleküle vier Atome Wasserstoff, inaktivieren ein Hexosemolekül und verringern die Ausscheidung von CO_2 in der Versuchsportion im Vergleich zu der Kontrollportion um 2 CO_2. Die Formel des Methylenblaus lautet: $C_{16}H_{18}N_3SCl + 3H_2O$. (In meiner vorläufigen Mitteilung, Berichte d. D. Botan. Gesellsch., Bd. 31, 1913, S. 141.) Sein Molekulargewicht beträgt 373,8. Folglich müssen 2 $\times$ 373,8 = 747,6 mg Methylenblau die Ausscheidung von CO_2 um 2 $\times$ 44 = 88 mg verringern. Die Umrechnung auf eine beliebige Quantität Methylenblau bietet nun keine Schwierigkeiten. So wurden in dem vierten Versuche 556,3 mg Methylenblau genommen. Ich rechnete also darauf, daß das Defizit in der Ausscheidungsmenge von CO_2 nach folgender Proportion gleich x sein würde: 747,6 : 88 = 556,3 : x, x = 65,4. Statt dieses Unterschiedes erhielt ich einen doppelt so großen = 133,5. Dasselbe wiederholte sich mit unbedeutenden Schwankungen auch bei den folgenden Versuchen. Ich habe alle meine Zahlenangaben (sowohl in der Ausgangsproportion als auch in den Zusätzen) auf das wasserfreie Salz umgerechnet und dabei angenommen, daß ein Methylenblaumolekül zwei Moleküle kristallinischen Wassers enthält (siehe Wichern, Zur quantitativen Bestimmung der Reduktionskraft von Bakterien und tierischen Organen, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 57, 1908, S. 365), das sich bei 105° (in der Mitteilung war ein Druckfehler — 150°) abspaltet. Aus der Arbeit von Bernthsen (Studien in der Methylenblaugruppe, Liebigs Ann. d. Chemie, Bd. 230, 1885) erfuhr ich später, daß es noch ein drittes Molekül H_2O enthält, welches sich erst bei 130—150° abspaltet. Jetzt mache ich keine Umrechnung auf das wasserfreie Salz und nehme als Ausgangspunkt einfach das Salz, welches $3H_2O$ enthält. Deshalb unterscheiden sich die unten angeführten Zahlen von den Zahlenangaben der vorläufigen Mitteilung.

[2]) Von Schroeder aus München bezogen.

färbung ein und der Versuch wurde abgebrochen. Bei Bestimmung des Alkohols wurde das letzte Destillat sowohl in diesem, als auch in den folgenden Versuchen bis zu 100 ccm gebracht.

CO_2 in mg ausgeschieden					Bestimmung des Alkohols		$CO_2 : CH_3CH_2OH$
Stunden	5	15,5	6	Im ganzen	Depression	Alkohol in mg	
I. Kontrollportion	235	445	54	734	0,29°	690	100 : 94
II. Versuchsportion	125	388,5	87	600,5	0,24°	571	100 : 95

Die Quantität des Wasserstoffes, der der II. Portion entzogen wurde, entsprach: $H_2 = 556{,}3 \times 0{,}0054 = 3{,}004$ mg.

Der Unterschied in der Ausscheidungsmenge von CO_2 sollte nach der Proportion berechnet gleich $\alpha = 556{,}3 \times 0{,}2354 = 130{,}9$ mg sein. Tatsächlich betrug der Unterschied in diesem Versuch 734 — 600,5 = 133,5.

Versuch V. I. Die Kontrollportion enthielt: 100 ccm Wasser + 25 g Saccharose + 5 g derselben Hefe + 2.5 ccm Toluol. II. Die Versuchsportion enthielt dasselbe + 2225,2 mg Methylenblau.

CO_2 in mg ausgeschieden								Bestimmung des Alkohols		$CO_2 : CH_3CH_2OH$
Stunden	2½	3½	19	20½	14	8	Im ganzen	Depression	Alkohol in mg	
I. Portion	48,7	82	290	58,7	95,3	19,7	594,4	0,24	582	100 : 98
II. Portion	13,7	18,7	21	9.3	2,5	1,2	66,4	Spuren	Spuren	—

Das voraussichtliche Defizit in der Ausscheidungsmenge von CO_2 betrug $\alpha = 2225{,}2 \times 0{,}2354 = 523{,}6$ mg. Das tatsächlich beobachtete betrug 594.4 — 66.4 = 528 mg.

Die völlige Entfärbung der II. Portion war in diesem Versuch nicht eingetreten, trotzdem die Abschwächung der Färbung auf die Nähe des Endes der Reaktion hinwies. Wie die weiteren Versuche zeigten, kompliziert der Zusatz von allzu großen Quantitäten Methylenblau die Reaktion, vielleicht geschieht dies infolge einer Veränderung der physikalischen Bedingungen des Versuches. Es muß gesagt sein, daß die Leukoverbindung im Gegensatz zu dem Methylenblau selbst im Wasser sehr schwach löslich ist[1]) und deshalb in dem Maße, in dem die Reduktion fortschreitet, als weißes Sediment ausfällt. In diesem Versuch

[1]) Bernthsen, a. a. O.

war die Leukoverbindung in sehr großer Menge ausgefallen. Deshalb war vielleicht in diesem Versuch der geringe Unterschied zwischen dem vorausberechneten und tatsächlich beobachteten Defizit bloß eine zufällige Erscheinung. In den anderen Versuchen, in denen große Mengen Methylenblau genommen wurden, wurde solch ein geringer Unterschied nicht beobachtet (s. weiter unten). Und doch beweist dieser Versuch, daß man mit Hilfe von Methylenblau die Alkoholgärung fast vollständig hemmen kann, auf diese Weise eröffnet sich ein neuer Weg zum Studium der Anfangsstadien der Hexosespaltung. Eine der nächsten Aufgaben ist die Beantwortung der Frage, was unter solchen Bedingungen mit dem Zucker geschieht.

Versuch VI. I. Kontrollportion: 100 ccm Wasser + 8 g derselben Hefe + 25 g Saccharose + 2,5 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 1112,6 mg Methylenblau.

	CO_2 bis zur Entfärbung ausgeschieden				CO_2 nach der Entfärbung ausgeschieden			Im ganzen	Bestimmung des Alkohols		$CO_2 : CH_3\text{-}CH_2OH$
Stunden	2½	2	4½	Im ganzen	24	24	24		Depression	Alkohol in mg	
I. Portion	69,7	125,3	270	465	816,4	350,5	172	1803,9	0,70°	1666	100 : 92
II. Portion	25,3	62	111,3	198,6	409	241,3	156,5	1005,4	0,37°	881	100 : 87

In der II. Portion wurde $1112{,}6 \times 0{,}0054 = 6{,}008$ mg Wasserstoff abgelenkt. Das vorausberechnete Defizit des CO_2 betrug im Vergleich zur Kontrollportion $\alpha = 1112{,}6 \times 0{,}2354 = 261{,}8$. Das tatsächlich beobachtete betrug $465 - 198{,}6 = 266{,}4$ mg.

Versuch VII. I. Kontrollportion: 100 ccm Wasser + 6 g derselben Hefe + 25 g Saccharose + 2,5 g Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 410,1 mg Methylenblau.

	CO_2 bis zur Entfärbung ausgeschieden			Nach der Entfärbung		Im ganzen	Bestimmung des Alkohols		$CO_2 : CH_3CH_2OH$
Stunden	3	4	Im ganzen	24	24		Depression	Alkohol in mg	
I. Portion	85,4	150,2	235,6	388,4	162,9	786,9	0,30°	714	100 : 91
II. Portion	48,6	86,5	135,1	211,3	93,4	439,8	0,18°	428	100 : 97

Wasserstoff wurde in der II. Portion abgelenkt: $410{,}1 \times 0{,}0054 = 2{,}215$ mg. Das vorausgesetzte Defizit war: $\alpha = 410{,}1 \times 0{,}2354 = 96{,}5$ mg. Das tatsächlich vorgefundene Defizit: $235{,}6 - 135{,}1 = 100{,}5$ mg.

Versuch VIII. I. Kontrollportion: 65 ccm Wasser + 5 g derselben Hefe + 20 g Saccharose + 2,5 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 1112,6 mg Methylenblau.

CO_2 bis zur Entfärbung ausgeschieden					Bestimmung des Alkohols		$CO_2 : CH_3CH_2OH$
Stunden	3	4	14	Im ganzen	Depression	Alkohol in mg	
I. Portion . .	71,5	162,8	383,4	617,7	0,25 °	595	100 : 96
II. Portion . .	45,7	99,4	172,4	317,5	0,12 °	286	100 : 89

Wasserstoff wurde der II. Portion entzogen: 6,008 mg. Das vorausgesetzte Defizit war: $\alpha = 261,8$ mg. Das tatsächlich vorgefundene Defizit: 617,7 — 317,5 = 300 mg.

Versuch IX. I. Kontrollportion: 65 ccm 20prozentige Glykoselösung + 5 g Hefanol + 2,5 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 400 g Methylenblau.

CO_2 bis zur Entfärbung ausgeschieden				Bestimmung des Alkohols		$CO_2 : CH_3CH_2OH$
Stunden	6	10	Im ganzen	Depression	Alkohol in mg	
I. Portion . .	128,2	338,3	466,5	0,19 °	452	100 : 97
II. Portion . .	88,3	293,1	381,4	0,15 °	357	100 : 93

Der zweiten Portion wurden 400 × 0,0054 = 2,16 mg Wasserstoff entzogen. Das vorausberechnete Defizit betrug: $\alpha = 400 \times 0,2354 = 94,2$, das tatsächlich festgestellte = 85,1 mg.

In allen sechs Portionen, in denen die Bestimmung des Alkohols vorgenommen wurde, zeigte es sich, daß in der Portion mit Methylenblau seine Ausscheidung sich im Vergleich zu der Kontrollportion genau parallel der Ausscheidung des CO_2 verringerte: das Verhältnis des CO_2 zum Alkohol bleibt auch in Gegenwart von Methylenblau der theoretischen Norm nahe: durch Entfernung des Wasserstoffes kann dies Verhältnis nicht verändert werden. Besonders belehrend ist in dieser Beziehung der Versuch V, bei dem in der Kontrollportion 582 mg Alkohol und 594,4 mg CO_2 vorgefunden wurden, indes in der Versuchsportion mit Methylenblau der Gärungsprozeß fast vollständig gehemmt war; sowohl CO_2 als Alkohol wurde nur in sehr geringen Mengen vorgefunden. Auf diese Weise haben es beide Komponenten der Gärung, sowohl das CO_2

als auch der Alkohol, in gleichem Maße notwendig, daß der aktive Wasserstoff, der zeitweise von der Reduktase gebunden war, wieder dem Gärungsprozesse zugewendet wird und die Reduktionsreaktionen ausübt, ohne welche der Gärungsprozeß nicht sein normales Ende erreichen kann, mit anderen Worten, es spielt sich dieser Reduktionsvorgang früher ab, als die Abspaltung beider Produkte der Gärung.

In den Destillaten, die zur Bestimmung des Alkohols dienten, wurden qualitative Proben auf das Vorhandensein von Aldehyden und Ketonen vorgenommen (Reaktion mit Fuchsinschwefelsäure und Natriumnitroprussidlösung). Die Reaktion auf das Vorhandensein von Ketonen gab immer ohne Ausnahme ein negatives Ergebnis. In Anwesenheit von Fuchsinschwefelsäure wurde manchmal eine schwache Färbung beobachtet. In Anbetracht der Empfindlichkeit dieser Reaktion müssen wir zugeben, daß die Entstehung von merklichen Mengen von flüchtigen Aldehyden auch nicht stattfand. Wenn also, wie S. Kostytschew meint, das Azetaldehyd tätsächlich ein Zwischenprodukt des Gärungsprozesses bildet, so geht seine Entstehung komplizierter vor sich, als man nach dem Schema dieses Autors voraussetzen könnte[1]).

Versuch X. Zu diesem Versuch wurde Mazerationssaft genommen, der nach Lebedew gewonnen war. Die Filtration dauerte 12 Stunden bei einer Temperatur von circa 0°.

I. Kontrollportion: 30 ccm Saft + 6 g Glykose + 2 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 1466,4 mg Methylenblau.

	CO_2 ausgeschieden			Im ganzen
Stunden	6	14	8	
I. Portion . . .	251,4	901,4	233,8	1386,6
II. Portion . . .	201,5	665,6	128,1	995,2

Versuch XI. Der Saft wurde 15 Stunden bei einer Temperatur von ungefähr 2—3° filtriert. I. Kontrollportion: 30 ccm Saft + 7 g

[1]) Ich muß übrigens sagen, daß ich, wenn ich von Reduktionsvorgängen spreche, selbstverständlich nur jene im Auge habe, welche dank der konkurrierenden Wirksamkeit des Methylenblaus wegfallen. Man kann annehmen, daß in dem gärenden Medium auch noch andere Reduktionsvorgänge stattfinden, welche das Methylenblau nicht imstande ist zu stören. Dann bleibt das Schema von S. Kostytschew vollständig außer dem Bereich meiner Arbeit.

Glykose + 2 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 2191,6 mg Methylenblau.

CO_2 ausgeschieden			Im ganzen
Stunden	13	$8^1/_2$	
I. Portion	353,5	533,3	886,8
II. Portion	211,5	109,2	320,7

In Anbetracht dessen, daß sich auf dem Boden der Kolben ein reichliches Sediment gebildet hatte, welches den Gasstrom erschwerte, wurden beide Versuche (der X. und der XI.) abgebrochen, bevor völlige Entfärbung eingetreten war.

Trotzdem der Reduktionsvorgang nicht zu Ende gekommen war, hatte der tatsächliche Unterschied in der Ausscheidung von CO_2 zwischen den beiden Portionen schon den vorausberechneten Unterschied überstiegen: im Versuche X war $\alpha = 1386{,}6 - 995{,}2 = 391{,}4$: vorausberechnet war $\alpha = 1466{,}3 \times 0{,}2354 = 345{,}2$. Im Versuch XI war $\alpha = 886{,}8 - 320{,}7 = 566{,}1$ mg: gegenüber der voraus berechneten Menge: $\alpha = 2191{,}6 \times 0{,}2354 = 515{,}9$ mg. Es war zu viel Methylenblau genommen worden. Deshalb ging ich bei den folgenden Versuchen zu geringeren Mengen über.

Versuch XII. Der Saft wurde im Laufe von 12 Stunden bei einer Temperatur von circa 0^0 filtriert. I. Kontrollportion: 30 ccm Saft + 10 ccm Wasser + 8 g Glykose + 2 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 565,8 mg Methylenblau.

Ausscheidung des CO_2 bis zur Entfärbung				CO_2 nach der Entfärbung		Im ganzen
Stunden	13	$8^1/_2$	Im ganzen	$16^1/_2$	24	
I. Portion . . .	353,5	433,3	786,8	453,2	230	1470
II. Portion . . .	323,5	302	625,5	474,8	229	1329,3

Aus der II. Portion wurden $565{,}8 \times 0{,}0054 = 3{,}06$ mg Wasserstoff entfernt. Das vorausberechnete Defizit betrug: $565{,}8 \times 0{,}2354 = 133{,}2$ mg. Das tatsächlich vorhandene: $786{,}8 - 625{,}5 = 161{,}3$ mg.

Versuch XIII. Der Saft wurde im Laufe von 4 Stunden bei Zimmertemperatur filtriert. I. Kontrollportion: 50 ccm Saft + 10 g Glykose + 2,5 ccm Toluol. II. Versuchsportion: dasselbe + 323,5 mg Methylenblau.

	CO_2 bis zur Entfärbung ausgeschieden			CO_2 nach der Entfärbung	Im ganzen
Stunden	$2^1/_2$	$15^1/_2$	Im ganzen	23	
I. Portion	103	877,2	980,2	803,3	1783,5
II. Portion	88	832	920	780,5	1700,5

Nach $2^1/_2$ Stunden war die Entfärbung noch nicht eingetreten. Am Morgen (nach noch $15^1/_2$ Stunden) war die II. Portion vollständig entfärbt. Aus der II. Portion wurden $= 323{,}5 \times 0{,}0054 = 1{,}75$ mg Wasserstoff entfernt. Das vorausberechnete Defizit war: $\alpha = 323{,}5 \times 0{,}2354 = 76{,}1$ mg, das tatsächlich vorgefundene: $980{,}2 - 920 = 60{,}2$ mg.

Versuch XIV. Der Saft wurde im Laufe von 14 Stunden bei einer Temperatur von circa 0° filtriert. Es wurden vier Portionen verwendet: I. Portion: 30 ccm Saft + 6 g Glykose + 2 ccm Toluol. Luftstrom. II. Kontrollportion: dasselbe. Wasserstoffstrom. III. Portion: dasselbe + 463,3 mg Methylenblau. Wasserstoffstrom. IV. Portion: dasselbe + 780,8 mg Methylenblau. Wasserstoffstrom.

Die I. Portion wurde nicht mit dem Apparate von Bardeleben in Verbindung gebracht und wurde verwendet, um zu prüfen, ob der Mazerationssaft die Hexose unter aeroben (I. Portion) und anaeroben (II. Portion) Verhältnissen in gleichem Maße vergärt.

Stunden	I. Portion	II. Kontroll-portion	III. mit Methylenblau	IV. mit Methylenblau
7	330,5	324,8	226,4	201,8
6	212,5	207,2	199,3	165,6
16	312	320,8	354,5	273,2
24	184	172	138,1	74,0
Im ganzen	1039,0	1024,8	918,3	714,6

Die III. Portion entfärbte sich nach 7 Stunden. Es wurde ihr $H_2 = 463{,}3 \times 0{,}0054 = 2{,}5$ mg entzogen. Das vorausberechnete Defizit betrug: $\alpha = 463{,}3 \times 0{,}2354 = 109{,}1$ mg, das tatsächlich vorgefundene: $\alpha = 324{,}8 - 226{,}4 = 98{,}4$ mg. Die IV. Portion entfärbte sich nach $7 + 6 = 13$ Stunden. Es wurde ihr $780{,}8 \times 0{,}0054 = 4{,}22$ mg Wasserstoff entzogen. Das vorausberechnete Defizit betrug: $780{,}8 \times 0{,}2354 = 183{,}8$ mg, das tatsächlich vorgefundene: $(324{,}8 + 207{,}2) - (201{,}8 + 165{,}6) = 164{,}6$ mg.

Der Vergleich der I. und II. Portion beweist, daß die Zymase auch in dem Mazerationssaft sich zu dem Sauerstoff der Luft vollständig inaktiv verhält[1]).

Versuch XV. Der Saft wurde im Laufe einer Nacht bei der Temperatur von circa + 6° filtriert. I. Kontrollportion: 25 ccm Saft + 5 g Glykose + 2 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 410 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 429 mg Methylenblau.

Die Entfärbung trat in der II. und III. Portion fast gleichzeitig ein (nach 20 Stunden) und deshalb wurden alle Portionen parallel abgenommen.

Stunden	I. Kontrollportion	II. mit Methylenblau	III. mit Methylenblau
8	184,1	150.4	145,3
12	309.2	233,8	233,9
	493,3	384.2	379,2
20	358	385,4	361,4
72	171,4	154.8	142,5
Im ganzen	1022,7	924,4	883,1

In der II. Portion wurde Wasserstoff $H_2 = 410 \times 0,0054 = 2,21$ mg abgelenkt. Das vorausberechnete Defizit betrug: $\alpha = 410 \times 0,2354 = 96,5$ mg, das tatsächlich aufgefundene: $\alpha = 493,3 - 384.2 = 109,1$ mg. In der III. Portion wurden $H_2 = 429 \times 0,0054 = 2,32$ mg Wasserstoff abgelenkt. Das vorausberechnete Defizit betrug: $\alpha = 429 \times 0,2354 = 101$ mg, das tatsächlich vorgefundene: $\alpha = 493,3 - 379,2 = 114,1$ mg.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß in den Versuchen mit Hefemazerationssaft, wenn nur nicht zu viel Methylenblau genommen wurde, nach Beendigung der Reduktionsperiode die Portion mit Methylenblau nicht selten im Vergleich zu der Kontrollportion einen gewissen Überschuß an CO_2 gibt. In den früheren Versuchen mit Trockenhefe wurde fast regelmäßig das Gegenteil beobachtet: auch nach Beendigung der Reduktionsperiode blieb die Portion mit Methylenblau hinter der normalen zurück, ihre Arbeit blieb verringert; dies ist wahrscheinlich einer von den Gründen, welche die Benutzung von großen Dosen Methylenblau unbequem machen; wenn die Reduktionsperiode verzögert wird, tritt die Wirkung eines neuen Faktors hinzu und die gegenseitigen Beziehungen werden verschoben.

In den Versuchen mit Hefemazerationssaft, in denen kleine Mengen des Reagens benutzt werden, wird solch ein Unterschied zwischen den

[1]) S. Gromow und Grigoriew, a. a. O.

zwei Portionen nicht beobachtet: so blieb in dem Versuch XIII selbst nach 40 Stunden der Unterschied zwischen den Portionen, der 83 mg betrug, nahe dem vorausberechneten (= 76,1), trotzdem die Reduktion lange schon beendigt war. In anderen Fällen, wiederhole ich, wird sozusagen die Tendenz bemerkbar, das nachzuholen, was in der ersten Periode versäumt wurde.

Wie sich diese eigentümliche „Nachwirkung“ erklären läßt, kann ich vorläufig noch nicht beurteilen. Es muß erst festgestellt werden, was in der Reduktionsperiode mit dem Zucker geschieht[1]).

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse aller Versuche, mit Ausnahme derer, in denen allzu große Mengen Methylenblau benutzt wurden, zusammengestellt.

Nummer der Versuche	Methylenblau (wasserhaltiges Salz) in mg	CO_2 in der Kontrollportion	CO_2 in der Versuchsportion	Der beobachtete Unterschied	Der vorausberechnete Unterschied	Abgelenktes H_2 in mg
1.	2.[2])	3.	4.	5.	6.[2])	7.
IV	556,3	734	600,5	133,5	130,9	3,004
VI	1112,6	465	198,6	266,4	261,8	6,008
VII	410,1	235,6	135,1	100,5	96,5	2,215
VIII	1112,6	617,7	317,5	300,2	261,8	6,008
IX	400	466,5	381,4	85,1	94,2	2,16
XII	565,8	786,8	625,5	161,3	133,2	3,06
XIII	323,5	980,2	920,0	60,2	76,1	1,75
XIV	463,3	324,8	226,4	98,4	109,1	2,5
XIV	780,8	532,0	367,4	164,6	183,8	4,22
XV	410	493,3	384,2	109,1	96,5	2,21
XV	429	493,3	379,2	114,1	101,0	2,32

Die Ähnlichkeit der Zahlen in der 5. und 6. Reihe beweist, wie mir scheint, daß die Überlegungen, von denen ich ausgegangen bin, ihrem Wesen nach richtig waren.

Die Grundthese kann auf folgende Weise ausgedrückt werden: ein Grammolekül Methylenblau entzieht dem gärenden Medium ein Grammolekül (d. h. zwei Grammatome) Wasserstoff und inaktiviert

[1]) Die unlängst erschienene Arbeit von H. Euler und Th. Berggren, Über die primäre Umwandlung der Hexosen bei der alkoholischen Gärung (Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 203) beschäftigt sich mit der sehr wichtigen Frage über das Anfangsstadium der Zuckerspaltung bei der Gärung.

[2]) Siehe Anmerkung auf S. 302.

dadurch ein Grammolekül Hexose, welches auf diese Weise vor der weiteren Spaltung in Alkohol und CO_2 bewahrt wird. Aus dieser Grundthese lassen sich, denke ich, folgende Schlüsse ziehen:

1. Das erste oder eins der ersten Stadien der Alkoholgärung ist die Aktivierung zweier Atome Wasserstoff unter Mitwirkung der Reduktase. Über den Ursprung dieses aktiven Wasserstoffes kann ich nichts sagen, ich kann auch nicht sagen, ob er unmittelbar von der Hexose abgespalten wird oder ob er das Ergebnis der Dissoziation des Wassers in Ionen[1]) bildet. (In letzterem Falle wird das Hexosemolekül zum Gegenstand der oxydierenden Einwirkungen seitens der sich parallel bildenden OH-Ionen). Ohne mich bei der Frage aufzuhalten, was mit der Hexose geschieht, stelle ich mir dieses Stadium schematisch folgenderweise vor:

$$C_6H_{12}O_6 + \text{Red.} = (C_6H_{12}C_6 - 2\,H) + \text{Red.}\langle{}^{H}_{H.}$$

2. Der Wasserstoff, der zeitweise von der Reduktase gebunden wird, ist zum normalen Verlauf der Gärung notwendig; dabei bedürfen beide Komponenten, sowohl das CO_2 als auch der Alkohol, in gleichem Maße der Mitwirkung dieses Wasserstoffes in dem weiteren Verlauf des Gärungsprozesses.

3. Die Abwesenheit einer klar ausgeprägten qualitativen Reaktion auf Aldehyde (mit Fuchsinschwefelsäure) zeigt, daß die Bildung von Aldehyden bei der Gärung des Zuckers, wenn sie auch wirklich stattfindet, ein komplizierterer Vorgang ist, als man nach dem Schema von Kostytschew voraussetzen könnte[2]).

4. Zwischen der Reduktions- und Gärungsenergie der Hefe besteht, wie es scheint, ein strenger Parallelismus: indem wir die Reduktase zwingen, den von ihr fixierten Wasserstoff anderweitig abzugeben, verringern wir in streng äquimolekularem Verhältnis die Ausscheidung der Gärungsprodukte.

In allen oben beschriebenen Versuchen arbeitete die Zymase in Gegenwart von Zucker. In meinen Versuchen, die sich auf die Selbstgärung der Hefe bezogen, stieß ich wieder auf scharf ausgeprägte molekulare Verhältnisse, wenn auch in anderer, sehr eigentümlicher Form.

---

[1]) Die Idee von der aktiven Rolle des Wassers im Gärungsprozeß ist in dem von W. Palladin entwickelten Schema durchgeführt (W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1. 1912, S. 91).

[2]) Siehe S. 301.

III. Versuche mit der Selbstgärung der Hefe.

Trockene Hefepräparate, die ohne Zusatz von Zucker mit Wasser vermischt werden, sind imstande, eine ziemlich energische Reduktion des Methylenblaus hervorzurufen, trotzdem die Ausscheidung von CO_2 unter den Bedingungen der Selbstgärung sich dabei nicht immer in großen Zahlen ausdrückt. Der nach Lebedew hergestellte Hefensaft hat eine sehr schwache Fähigkeit zur Selbstgärung. Unter gewissen Bedingungen (langdauernde Filtration) reduziert sich die Selbstgärung (im Sinne der Ausscheidung von CO_2) praktisch auf Null.

Versuch XVI. 50 ccm Saft, die im Laufe von 14 Stunden filtriert wurden, haben im ganzen 14,2 mgr CO_2 (ohne vorhergehende Evakuation) ausgeschieden. Andere 50 ccm desselben Saftes haben unter anaeroben Bedingungen (Wasserstoffatmosphäre) 500 mg Methylenblau vollständig entfärbt. Wenn unter den Bedingungen der Selbstgärung dieselben Verhältnisse bestehen würden, die bei dem Gärungsprozeß in Anwesenheit von Zucker beobachtet werden, so müßten diese 500 mg Methylenblau, indem sie sich zur Leukoverbindung reduzieren, die Ausscheidung der CO_2 auf 118 mg verringern. Aber sie sind nicht vorhanden: die Kontrollportion hat im ganzen 14,2 mg ergeben. Außerdem enthält der Mazerationssaft, wie Lebedew behauptet, gar kein oder fast gar kein Glykogen, d. h. kein Gärmaterial. Dessenungeachtet entzieht das Methylenblau selbst unter diesen Bedingungen noch Wasserstoff. Woher kommt nun der letztere und zu welchen Vorgängen führt seine Entziehung?

Schon die ersten Versuche, deren Methodik eine Nachahmung der früheren Versuche bildete, gaben ein unerwartetes Resultat: das Methylenblau stimuliert die Ausscheidung von CO_2.

Versuch XVII. Zu jeder der zwei Portionen wurden je 6 g Trockenhefe nach Lebedew + 100 ccm Wasser + 2,5 ccm Toluol genommen. Die II. Portion erhielt außerdem 400 mg Methylenblau. Nach 36 Stunden, in deren Verlauf das Methylenblau vollständig entfärbt wurde, ergab die I. Portion — ohne Methylenblau — 108,6 mg CO_2, die II. Portion — mit 400 mg Methylenblau — 157,4 mg CO_2. Der Unterschied zugunsten der II. Portion betrug 48,8 mg.

Versuch XVIII. Es wurden vier Portionen verwendet: I. Kontrollportion: 50 cm Wasser + 5 g derselben Hefe + 2 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 200,5 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 401 mg Methylenblau. IV. Portion: dasselbe + 700 mg Methylenblau.

Die II. Portion entfärbte sich nach 5 Stunden und wurde abgenommen; die III. wurde am Morgen entfärbt gefunden und 20 Stunden nach Beginn des Versuches abgenommen; die IV. 55 Stunden nach Beginn des Versuches. Die Röhren wurden gleichzeitig abgenommen und neue zur Kontrollportion (I) aufgestellt. — Die II., III. und IV. Portion haben im Laufe der entsprechenden Periode der Reduktion des Methylenblaus 54,5; 135,6; 191,1 mg CO_2, im Laufe derselben Periode hat die Kontrollportion 32,4; 80,4; 104,7 mg CO_2 ausgeschieden. Der Unterschied zugunsten der Portionen mit Methylenblau betrug: für die II. Portion mit 200,5 mg Methylenblau 54,5 — 32,4 = 22,1 mg, für die III. Portion mit 401 mg Methylenblau 135,6 — 80,4 = 55,2 mg, für die IV. Portion mit 700 mg Methylenblau 191,1 — 104,7 = 86,4 mg.

Wir sehen, daß zwischen dem Überschuß an CO_2 und der Menge des reduzierten Methylenblaus eine gewisse Proportionalität besteht. Wenn wir in diesen zwei Versuchen eine Umrechnung auf 100 mg Methylenblau machen, so erhalten wir folgende Reihe von Zahlen: Auf 100 mg Methylenblau würde überschüssige CO_2 ausgeschieden: $\frac{48,8}{4} = 12,2$ $\frac{22,1}{2} = 11,0$ $\frac{55,2}{4} = 13,8$ $\frac{86,4}{7} = 12,3$. Die Zahlen schwanken ziemlich nahe zwischen 11 und 14. Diese Zahlen erhalten eine sehr bestimmte Bedeutung, wenn wir voraussetzen, daß die Entziehung zweier Wasserstoffatome (die sich mit Hilfe eines Moleküls Methylenblau vollzieht) unter den Bedingungen der Selbstgärung die Bildung nur eines überschüssigen CO_2-Moleküls hervorruft. In diesem Falle muß auf Grund der molekularen gegenseitigen Beziehungen folgende Proportion Platz haben: $373,8 : 44 = 100 : \alpha$; $\alpha = 11,77$, d. h. je 100 mg Methylenblau müssen die Ausscheidung von zirka 12 mg (11,77 mg) überschüssiger CO_2 hervorrufen.

Versuch XIX. Es wurden 4 Portionen verwendet: I. Kontrollportion: 100 ccm Wasser + 10 g Hefanol + 2,5 ccm Toluol, II. Portion: dasselbe + 158,5 mg Methylenblau, III. Portion: dasselbe + 293,7 mg Methylenblau, IV. Portion: dasselbe + 606,0 mg Methylenblau.

Infolge eines Zufalles konnte ich den Verlauf des Versuches nicht verfolgen, und alle Portionen wurden gleichzeitig, 26 Stunden nach Beginn des Versuches, als die Reduktion des Methylenblaus schon in allen drei Portionen völlig beendigt war, abgenommen. Im Laufe dieser Zeit wurde an CO_2 ausgeschieden: in der I. Portion 207,4 mg; in der II. 193,3 mg; in der III. 210,3 mg; in der IV. 246,0 mg. Die I. Portion (ohne Methylenblau) hat im Gegensatz zu den früheren Versuchen etwas

mehr CO_2 ausgeschieden als die II. Portion mit der geringsten Menge Farbstoff. Ob dieser Unterschied eine Folge eines zufälligen Fehlers in der Analyse oder eine natürliche Erscheinung war, kann ich nicht mit Bestimmtheit sagen. Wenn wir aber den Unterschied zwischen der III. und II. Portion und sodann den Unterschied zwischen der IV. und III. berechnen, so erhalten wir folgende Proportionen: III erhielt 135,2 mg Methylenblau mehr als II und hat 210,3 — 191,3 = 17 mg CO_2 mehr ausgeschieden als II. Auf 100 mg Methylenblau kommen $\frac{17}{1,352} = 12,5$ mg CO_2. IV erhielt 312,3 mg Methylenblau mehr als III und hat 246 — 210,3 = 35,7 mg mehr CO_2 ausgeschieden. Auf 100 mg Meth. kommen $\frac{35,7}{3,123} = 11,4$ mg überschüssige CO_2.

Wieder eine bedeutende Annäherung an die theoretisch berechnete Zahl (11,77)! Und doch war ich nicht vollständig überzeugt, bevor ich nicht zu den Versuchen mit Mazerationssaft überging.

Versuch XX. Der Saft wurde im Laufe einer Stunde filtriert. I. Kontrollportion: 10 ccm Saft + 10 ccm Wasser + 1 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 100 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 200 mg Methylenblau.

Nach 24 Stunden wurde der Versuch unterbrochen. Die II. Portion war vollständig entfärbt (während der Nacht), die III. hatte sich nicht entfärbt. Die Portionen hatten 5,7: 17,8: 20,1 mg CO_2 ausgeschieden. Auf 100 mg Methylenblau kamen in der II. Portion 17,8 — 5,7 = 12,1 mg (gegen 11,77) überschüssige CO_2.

Versuch XXI. Der Saft wurde im Laufe von 2 Stunden filtriert. I. Kontrollportion: 10 ccm Saft + 1 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 100 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 200 mg Methylenblau. IV. ebenso wie I., aber im Luftstrom.

Der Apparat war zwei Tage im Gang (überhaupt ist es bei den Versuchen mit Hefensaft unter den Bedingungen der Selbstgärung nicht nötig, den Augenblick der Entfärbung zu verfolgen). Die I. und IV. Portion hatten eine ganz gleiche Quantität CO_2 = 6,7 mg ausgeschieden. Die II. Portion ergab 18,6 mg CO_2. Auf 100 mg Methylenblau kamen 18,6 — 6,7 = 11,9 mg (gegen 11,77) überschüssige CO_2. III hatte sich nicht entfärbt und ergab 25,8 mg CO_2. Es ist bezeichnend, daß in der III. Portion des Versuchs XX und der III. Portion des Versuchs XXI, wo die Reduktion ihr Ende nicht erreicht hatte, die Quantität des über-

schüssigen CO_2 auch nicht die theoretische Größe erreichte: zwischen beiden Vorgängen besteht ein strenger Parallelismus.

Versuch XXII. Der Saft wurde im Laufe von 16 Stunden bei einer Temperatur von zirka + 5° filtriert. I. Kontrollportion: 50 ccm Saft + 2,5 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 218 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 450 mg Methylenblau. IV. Portion: dasselbe + 634 mg Methylenblau.

Der Apparat war drei Tage im Gang. Das Methylenblau hatte sich in allen drei Portionen entfärbt. Alle Portionen wurden gleichzeitig abgenommen und ergaben CO_2: Die I. Portion 14 mg, die II. Portion 39,1 mg. Überschuß gegenüber der Kontrollportion 39,1 — 14 = 25,1 mg. Auf 100 mg Methylenblau kommen $\frac{25,1}{2,18}$ = 11,5 mg überschüssige CO_2. Die III. Portion 68,5 mg. Überschuß 68.5 — 14 = 54,5 mg. Auf 100 mg Methylenblau kommen $\frac{54,5}{4,5}$ = 12,1 mg überschüssiges CO_2. Die IV. Portion 90,1 mg. Überschuß gegen die Kontrollportion = 90,1 — 14 = 76,1 mg. Auf 100 mg Methylenblau kommen $\frac{76,1}{6,34}$ = 12,0 mg überschüssige CO_2.

Es bleibt kein Zweifel an der Richtigkeit der oben ausgedrückten These. Analog der früheren, stelle ich sie wie folgt auf: ein Grammmolekül Methylenblau ruft, indem es aus dem gärenden Medium unter den Bedingungen der Selbstgärung ein Grammmolekül (das sind zwei Grammatome) Wasserstoff entzieht, die Ausscheidung eines Grammoleküls CO_2 hervor.

Um mich von dem fermentativen Charakter dieses Vorganges zu überzeugen, habe ich folgenden Versuch angestellt:

Versuch XXIII. Der Saft wurde im Laufe einer Nacht bei einer Temperatur von ca. 8—10° filtriert. I. Portion: 15 ccm Saft + 15 ccm Wasser + 2 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 100 mg Methylenblau. III. Portion: 15 ccm Saft + 15 ccm Wasser wurden im Laufe von 10 Minuten bei einer Temperatur von 80° erwärmt, nach der Abkühlung wurden 100 mg Methylenblau hinzugesetzt und die Portion, gleichzeitig mit den zwei ersten, mit dem Apparate in Verbindung gesetzt.

Die I. Portion hat 5,3 mg CO_2 ausgeschieden. Die II. Portion hat sich entfärbt und 17,4 mg CO_2 ausgeschieden, d. h. auf 100 mg Methylenblau kam ein Überschuß von 17,4 — 5,3 = 12,1 mg. Die III. Portion hat sich nicht entfärbt und kein CO_2 ausgeschieden.

Es ist klar, daß der Vorgang einen fermentativen Charakter hat. Es blieb noch ein Zweifel unbeseitigt. Methylenblau ist ein Salz. Vielleicht erleidet die Leukoverbindung, die sich unter dem Einfluß der Reduktase bildet, eine Hydrolyse, und das sich dabei befreiende HCl verdrängt die äquivalente Menge von CO_2 aus den Karbonaten? Die Anwesenheit der letzteren im Safte, der ausgeprägten Säurecharakter trägt, ist höchst zweifelhaft, dessenungeachtet habe ich zur Beseitigung dieses Zweifels folgenden Versuch durchgeführt:

Versuch XXIV. Der Saft wurde im Laufe einer Nacht bei einer Temperatur von ca. 10^0 filtriert. I. Kontrollportion: 50 ccm Saft + 2,5 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 602,5 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 102 mg Methylenblau. Der Versuch dauerte drei Tage. Die III. Portion befand sich zum Unterschiede von den beiden ersten die ganze Zeit im Luftstrom. Mit anderen Worten verfällt die sich hier im Laufe der Reduktion bildende Leukoverbindung dem Einfluß des Sauerstoffes, der sie mit geringerer oder größerer Leichtigkeit wieder oxydiert, indem er den Wasserstoff bis zum Wasser verbrennt. Das wiederhergestellte Methylenblau tritt wieder in Tätigkeit, entzieht eine neue Portion aktiven Wasserstoffes usw. Wenn die überschüssige Ausscheidung von CO_2 sich durch die Wirkung des Chlorwasserstoffes erklärt, welches im Prozesse der Hydrolyse frei wird, so muß die wiederholte Entziehung neuer Portionen Wasserstoffes durch dieselbe Menge Methylenblau keine weitere Vermehrung des CO_2 über die Norm hervorrufen, die der abgewogenen Quantität Methylenblau entspricht. Wenn der Hauptgrund in der Entfernung des Wasserstoffes liegt, so muß diese Portion viel energischer arbeiten, als es auf Grund des oben festgestellten Molekularverhältnisses statthaben sollte.

Und die I. Portion (ohne Methylenblau) hat tatsächlich 13.7 mg CO_2, die II. Portion 85 mg CO_2 ausgeschieden. Auf 100 mg Methylenblau kamen überschüssige $CO_2 = \frac{85 - 13,7}{6,025} = 11,8$. Die III. Portion hat 90 mg CO_2 ausgeschieden, mehr, als sogar die II. Portion, obgleich hier sechsmal weniger Methylenblau genommen worden war. Dieser Fall[1]) ist unter anderem auch deshalb interessant, weil er in formeller Hinsicht vollständig von dem von Ostwald aufgestellten Begriff der Katalyse gedeckt wird: eine geringe Menge Methylenblau beschleunigt die Aus-

[1]) Ich kann nicht umhin, darauf hinzuweisen, daß dieser Fall in dem seinerzeit von W. Palladin (W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 91) vorgeschlagenen Schema des Atmungsprozesses sozusagen theoretisch vorausgesagt war.

scheidung von CO_2 und befindet sich, ohne in die Endprodukte der Reaktion überzugehen, nach Beendigung der letzteren in seinem ursprünglichen Zustande — in der Form eines Pigmentes. Wenn der Chemismus der Wirkung des Methylenblaus uns nicht bekannt wäre, könnten wir von einer geheimnisvollen Wirkung durch die Berührung sprechen.

Auf Grund aller dieser Versuche müssen wir sagen, daß in dem gärenden Medium Substanzen vorhanden sind, die, wenn es gleichzeitig gelingt, mit Hilfe von Methylenblau zwei Atome Wasserstoff abzulenken, imstande sind, ein Molekül CO_2 abzuspalten. Das ist ein fermentativer Vorgang und er findet, wie es scheint, nur unter den spezifischen Bedingungen der Selbstgärung statt. In Anwesenheit von Zucker wird der entgegengesetzte Vorgang beobachtet: die Entziehung zweier Atome Wasserstoffes verringert die Ausscheidung von CO_2 um zwei Moleküle. Wenn beide Vorgänge gleichzeitig verlaufen würden, so könnte sich summa summarum nicht die Regelmäßigkeit äußern, die mit genügender Klarheit aus den Zahlenangaben der ersten Versuchsserie zutage tritt. Auf diese Weise ruft das Methylenblau unter den Bedingungen der Selbstgärung einen Prozeß sui generis hervor, der in Anwesenheit von Zucker gar nicht oder fast gar nicht stattfindet. Augenscheinlich müssen wir gerade in den spezifischen Bedingungen der Selbstgärung die Erklärung der Erscheinung suchen, die den Gegenstand meines Studiums in den letzten Versuchen bildete. Worin bestehen nun die spezifischen Eigentümlichkeiten der Selbstgärung? Wir wissen, daß unter diesen Bedingungen ein sehr energischer Abbau von Eiweiß vor sich geht, während das Eiweiß in Gegenwart von Zucker fast unberührt bleibt. So wurden, nach den Angaben von Grigoriew und Gromow[1]), ohne Zucker 49,8 % des Eiweißes abgebaut, in Gegenwart von Zucker (35 prozentige Lösung) nur 6,8 %.

Nach den Versuchen von Leonid Iwanoff mit Preßhefe geht der Abbau von Eiweiß in Anwesenheit von Zucker wenigstens zweimal schwächer vor sich als ohne Zucker[2]).

Es erscheint mir deshalb sehr wahrscheinlich, daß bei Anwesenheit von Methylenblau die Produkte des Eiweißabbaues, wohl am richtigsten Amidosäuren, vergärt wurden.

---

[1]) Gromow und Grigoriew, a. a. O.

[2]) Leonid Iwanoff, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 42, 1904, S. 464; desgleichen: Über die Umwandlung des Phosphors in den Gewächsen im Zusammenhang mit den Umwandlungen des Eiweißes, St. Petersburg, 1905 (russisch).

Sehr wertvoll erscheint für mich der Hinweis von A. Bach[1]), der die Aufmerksamkeit der Biologen auf eine interessante Reaktion gelenkt hat, die schon seit langem von Strecker studiert war. Laut dieser Reaktion gehen die Amidosäuren in Gegenwart von Alloxan, welches zwei Atome Wasserstoff an sich nimmt, unter Abspaltung von NH_3 und CO_2 in Aldehyde über. Auch hier, wie in meinen Versuchen, ruft die Entfernung zweier Atome Wasserstoff die Bildung eines CO_2-Moleküls hervor. Wenn der fermentative Vorgang in meinen Versuchen nach dem Typus dieser rein chemischen Reaktion verlaufen würde, so müßte dabei keine Alkoholbildung stattfinden, an Stelle des letzteren müßten sich Aldehyde ansammeln. Untersuchungen in dieser Richtung sind gerade eben eingeleitet worden und die ersten Versuche haben gezeigt, daß Alkohol dabei, wie es scheint, tatsächlich nicht gebildet wird. So wurde in dem vorhergehenden Versuch der Alkohol in der I. und II. Portion bestimmt. In Anbetracht der geringen Menge des Alkohols benutzte ich die Methode von Nicloux. Die zwei letzten Destillate wurden auf den Umfang von je 100 g gebracht.

Die I. Kontrollportion: 5 ccm benötigten 1,2 ccm Bichromatlösung. Folglich betrug der Alkoholgehalt im Destillat 0,12 Vol.-Proz., was dem Gewicht nach 0,096 % entspricht. Es wurden 96 mg Alkohol vorgefunden.

II. Portion mit Methylenblau: 5 ccm benötigten 1,35 ccm Bichromatlösung. Folglich betrug der Alkoholgehalt im Destillat 0,135 Vol.-Proz., was einem Gewicht von 0,107 % entspricht. Es wurden 107 mg Alkohol vorgefunden. Auf diese Weise macht der Unterschied zugunsten der II. Portion im ganzen 107 — 96 = 11 mg aus, indessen wurde hier um 71,3 mg mehr CO_2 als in der I. Portion ausgeschieden.

Versuch XXV. Wiederholung des vorhergehenden Versuches. I. Kontrollportion: 50 ccm Saft + 2 ccm Toluol. II. Portion: dasselbe + 752 mg Methylenblau. III. Portion: dasselbe + 46 mg Methylenblau. Luftstrom.

Bemerkenswert ist der Umstand, daß die III. Portion trotz des Luftstroms sich schnell entfärbte und erst nach zwei Tagen wieder eine intensiv blaue Färbung annahm. Augenscheinlich geht die Reduktion energischer vor sich, als die Oxydation der Leukoverbindung. Die II. Portion war zu Ende des Versuches nicht vollständig entfärbt, sondern hatte einen grünlichen Ton angenommen, der von dem Herannahen des Endes der Reduktion zeugte.

---

[1]) A. Bach, a. a. O.

CO_2 ausgeschieden in Stunden							Im ganzen	Nach der Destillation in g	Bichromat in ccm	Alkohol in % nach Gewicht	Alkohol in mg
Stunden	4	24	24	48	24	24					
I. Portion	7,3	8,3	—	—	—	3,8	19,4	105 g	1,45	0,115 %	121
II. Portion	37,7	33	20,8	—	—	13,3	104,8	170 g	1,0	0,08 %	136
III. Portion	11,7	9,3	17	35	10	2,1	85,1	97 g	1,5	0,12 %	116

Der Unterschied in der Menge des Alkohols zwischen der Versuchs- und Kontrollportion ist im Vergleich zum Unterschiede in der Ausscheidung von CO_2 gering; d. h. man könnte denken, daß tatsächlich die Bildung des überschüssigen CO_2 nicht von einer parallelen Bildung des Alkohols begleitet wird. Aber die absoluten Zahlen sind so gering, daß ich nicht mit Bestimmtheit auf dem endgültigen Schlusse bestehen kann; es sind noch weitere Versuche nach dieser Richtung hin erforderlich. Auf diese Weise führen uns die Versuche über die Selbstgärung der Hefe zu folgenden Schlüssen:

1. Ein Grammolekül Methylenblau ruft, indem es im Reduktionsprozeß (unter den Bedingungen der Selbstgärung) zwei Grammatome Wasserstoff entzieht, die Bildung eines Überschusses an CO_2 in einer Menge von einem Grammolekül hervor, — mit anderen Worten:

2. in dem gärenden Medium befindet sich eine Substanz, die in Abwesenheit von Zucker imstande ist, ein Molekül CO_2 unter der Bedingung abzuspalten, daß aus dieser Substanz gleichzeitig zwei Atome Wasserstoff entfernt werden:

3. dieses ist ein enzymatischer Vorgang: wenn die Fermente des Gärmediums durch Erwärmung zerstört werden, bleibt er stillstehen.

4. Die Ausscheidung eines Überschusses an CO_2 ist wahrscheinlich ein einseitiger Vorgang in dem Sinne, daß dabei kein entsprechender Überschuß in der Ausscheidung von Alkohol beobachtet wird (diese These muß in Anbetracht der geringen Größe der absoluten Zahlen durch neue Versuche bestätigt werden).

5. Ich setze voraus, daß dieses CO_2 ein Ergebnis der Vergärung von Amidosäuren unter paralleler Bildung von Aldehyden ist. Zur Bestätigung dieser Voraussetzung habe ich spezielle Versuche angefangen.

Wie verschieden nach ihren Ergebnissen die unter den Bedingungen der Gärung und Selbstgärung vor sich gehenden Fermentationsvorgänge auch sind: sowohl hier als dort wird ein enger Zusammenhang zwischen diesen Prozessen und der Wirksamkeit der Reduktase beobachtet. Auf

Grund des experimentellen Materials, das in dieser Arbeit zusammengefaßt ist, kann man mit Bestimmtheit sagen, daß die Reduktase in den Gärungsvorgängen die wichtigste Rolle spielt: die Aktivierung des Wasserstoffes, die unter der Einwirkung der Reduktase vor sich geht, bildet die wichtigste Eigentümlichkeit dieser Vorgänge.

Ich glaube, man kann noch weitergehen und sagen, daß die Reduktase den Mittelpunkt des Gärungsapparates bildet, sein hauptsächlichstes enzymatisches Agens ist. Es gibt keine Gärung ohne Reduktase. Daraus kann natürlich nicht die entgegengesetzte Folgerung gezogen werden; wir kennen Reduktasen, die gar keine Beziehung zu der Gärung haben (z. B. das Schardingerenzym). Mit anderen Worten ist die Zymasewirkung (darunter verstehen wir den Gärungsapparat im ganzen) ein spezieller, komplizierter Fall der Reduktasewirkung. Damit sich der Gärungsapparat bilden kann, der seiner Organisation nach sehr kompliziert ist, muß die Reduktase mit neuen Faktoren in Verbindung treten, wobei sie aber doch auch unter ihnen ihre vorherrschende Rolle und Grundfunktion bewahrt. Diese Funktion besteht bei ihr, ebenso wie bei ihrem chemischen Analogon, dem Palladium, in der Aktivierung des Wasserstoffes.

Nitritassimilation durch Schimmelpilze.

2. Mitteilung.

Von **Alexander Kossowicz.**

In meiner ersten Mitteilung[1]) habe ich nachgewiesen, daß alle von mir untersuchten Schimmelpilze in Nitritnährlösungen (bei entsprechender Zusammensetzung der Nährlösung, Temperatur und Versuchsdauer) sich entwickeln können und Nitrit assimilieren. Es wurde betont, daß auch die Annahme einer direkten Assimilation des Nitrit-Ions durch Schimmelpilze, ohne vorhergehende Ammoniakbildung, ihre Berechtigung hat, und daß der bloße qualitative Nachweis von Ammoniak in zuckerhaltigen Nährlösungen mit dem Neßlerschen Reagens nicht dagegen spricht und auch nicht als Gegenbeweis angeführt werden darf, da das Neßlersche Reagens auch mit einer Dextroselösung und natürlich auch mit Invertzucker, bezw. den Spaltprodukten der Hydrolyse des Rohrzuckers in ähnlicher Weise wie mit Ammoniak reagiert, also gelblich- bis rötlichbraune Verfärbungen bezw. Fällungen gibt.

Es galt nun, die bisherigen Untersuchungen durch Prüfung der Schimmelpilzzuchten zu verschiedenen Zeiten, nach verschieden langer Versuchsdauer, in verschiedenen Entwicklungsstadien und durch Heranziehung der maßanalytischen Bestimmung des Ammoniaks mit $^n/_{100}$ HCl-Lösung, in den mit dem Neßlerschen Reagens erhaltenen positiven Befunden, zu ergänzen. Zu diesem Zwecke wurden je 10 ccm der zu prüfenden Nährlösung mit gebrannter Magnesia destilliert, das Destillat in einer $^n/_{100}$ HCl-Lösung aufgefangen und mit $^n/_{100}$ NaOH zurücktitriert. 1 ccm der $^n/_{100}$ HCl-Lösung entsprach: 0,0007425 g HCl = 0,0003467 g NH_3. Zur Untersuchung kamen die nachfolgenden 9 Schimmelpilze: Asp. glaucus, Asp. niger, Pen. glaucum, Pen. brevicaule, Mucor Boidin, Isaria farinosa, Botrytis Bassiana, Cladosporium her-

[1]) Al. Kossowicz, Zeitschrift für Gärungsphysiologie, Bd. 2, 1912, S. 55.

barum und ein roten Farbstoff entwickelndes Fusarium (Fusisporium G.). Verwendet wurden in Erlenmeyer-Kölbchen befindliche sterile Nährlösungen (je 50 ccm). Die Probeentnahme geschah unter sorgfältiger Vermeidung einer Luft- oder sonstigen Infektion. Die Pilze wurden zunächst aus Kartoffelzuchten (Kartoffelkeile in Eprouvetten) in eine Nitratzuckerlösung[1]) und nach guter Entwicklung in die Versuchsnährlösungen übertragen.

I. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 5 g KNO_2, 10 g Mannit, 0,3 g KH_2PO_4, 0.3 g $MgSO_4$ und eine geringe Menge $CaCO_3$. Zwei Tage nach Impfung der Nährlösungen konnte in sämtlichen Erlenmeyerkölbchen bei Zimmertemperatur (14—19° C) eine schwache Entwicklung der oben genannten Schimmelpilze festgestellt werden. Am 4. Tage war die Entwicklung weiter fortgeschritten und zeigten die Nährlösungen schwache, vielfach durch leere Stellen unterbrochene Hautbildung. Die Untersuchung mit dem Neßlerschen Reagens gab bei allen Schimmelpilzen und bei den Kontrollkölbchen, die ungeimpft geblieben waren, ein negatives Resultat. Ganz ebenso verhielten sich sämtliche Kultur- und Kontrollkölbchen am 6., 7., 9., 10. und 12. Versuchstage. 12 Tage nach Einimpfung der Schimmelpilze in die Nährlösungen zeigten die einzelnen Schimmelpilze in ihrer Entwicklung merkliche Unterschiede. Gute Entwicklung und kräftige Deckenbildung konnte man bei Penicillium glaucum Link, Aspergillus glaucus, Cladosporium herbarum, Botrytis Bassiana und Fusarium (Fusisporium) bemerken; die anderen Pilze waren nur schwach entwickelt, Mucor Boidin wuchs untergetaucht ohne Sporangienbildung. Auch die mit Neßlerschem Reagens ausgeführte Untersuchung der Nährlösungen und des Pilzmyzels am 15., 18., 21., 23. und 24. Versuchstage ergab ein negatives Resultat. Unterdessen hatten sich auch die früher in der Entwicklung zurückgebliebenen Pilze weit besser entwickelt. Nach 26tägiger Versuchsdauer zeigte nun Penicillium glaucum eine deutliche Reaktion mit dem Neßlerschen Reagens, während eine solche bei allen anderen Pilzen und mit den Kontrollösungen nicht erhalten wurde. Die Nährlösungen (je 10 ccm) der sehr kräftig entwickelten Schimmelpilze: Pen. glaucum, Fusarium, Cladosporium, Botrytis und eine sterile Kontrollösung wurden mit MgO destilliert und das Destillat in $^n/_{100}$ HCl aufgefangen. Für

[1]) Die betreffende Nitratzuckerlösung, die weiter als Stammzucht für die übrigen Versuche gedient hat, hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 3 g KNO_3, 20 g Saccharose, 1 g KH_2PO_4, 1 g $MgSO_4$ und eine Spur $CaCO_3$.

Penicillium glaucum wurden 2,29 ccm $^n/_{100}$ HCl verbraucht, während für die übrigen Pilze und die Kontrollnährlösung ein Säureverbrauch von nur je 0,03 ccm eintrat, das Resultat also eigentlich Null war, da die Menge von 0,03 ccm schon innerhalb der Fehlergrenze liegt. Von den untersuchten Pilzen hatte bis zum 26. Versuchstage nur ein Pilz, nämlich Penicillium glaucum, in der Nitrit-Mannit-Nährlösung Ammoniak gebildet[1]). Die zurückgebliebenen Zuchten wurden weiter jeden zweiten Tag mit Neßlerschem Reagens untersucht. Das Resultat war stets ein negatives.

11 Tage später, also 37 Tage nach Beginn des Versuches, zeigten Isaria farinosa und Aspergillus glaucus bereits eine sehr gute Entwicklung, kräftige Deckenbildung und Fruktifikation, während Mucor Boidin, Aspergillus niger und Penicillium brevicaule schwächer entwickelt waren. An diesem Tage wurde nun mit dem Neßlerschen Reagens bei Isaria farinosa eine kräftige NH_3-Reaktion erhalten, während die übrigen Pilzzuchten, darunter auch der sehr kräftig entwickelte, fruktifizierende (Konidien) Asp. glaucus, und die Kontrollelösungen eine solche nicht gaben. Die Destillation mit MgO und die Titration des Destillates zeigten nun bloß bei Isaria farinosa einen Säureverbrauch von 3,1 ccm, bei allen anderen Schimmelpilzen und den Kontrollnährlösungen von je 0,03—0,04 ccm. Es hatte also nur Isaria farinosa Ammoniak gebildet. Vor der Destillation war auch auf das Vorhandensein von Nitrit geprüft worden, das stets auch in den gut entwickelten Pilzzuchten noch nachgewiesen werden konnte.

Von den 9 untersuchten Pilzen hatten während einer 37tägigen Versuchsdauer bei wiederholter Kontrolle nur zwei Schimmelpilze, Penicillium glaucum und Isaria farinosa, Ammoniakbildung gezeigt, und auch bei diesen zwei Pilzen trat sie erst nach längerer Versuchsdauer und erlangter kräftiger Entwicklung, bezw. Fruktifikation ein. Auch die mikrochemische Untersuchung des Pilzmyzels ergab das gleiche Resultat. Es kann daraus jedenfalls geschlossen werden, daß Schimmelpilze ungeachtet ihrer sehr kräftigen Reduktionsfähigkeit, die sich auch gegenüber Nitriten äußern kann, Nitrite auch direkt, ohne vorhergehende Ammoniakbildung assimilieren.

2. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 10 g KNO_2, 2,5 g Dextrose, 2,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$ und eine Spur $CaCO_3$. Schon am 2. Tage nach der Impfung

[1]) Daß es sich hierbei tatsächlich um Ammoniak gehandelt hat, wurde in einem Parallelversuch mit Platinchlorid nachgewiesen, doch mußte wegen des sehr geringen Niederschlages von einer gewichtsanalytischen Bestimmung abgesehen werden.

der Nährlösungen mit den eingangs genannten 9 Pilzen war Entwicklung wahrzunehmen. Die Prüfung mit dem Neßlerschen Reagens ergab, wie vorauszusehen war, sowohl in den geimpften Kulturkölbchen als auch in den sterilen Kontrollekölbchen die für NH_3 charakteristische Reaktion. Dies war ja nicht weiter verwunderlich, da ja, wie schon mehrfach erwähnt, Dextrose für sich allein auch diese Reaktion gibt. 13 Tage nach Beginn des Versuches zeigten sehr kräftige Deckenbildung und Fruktifikation: Aspergillus glaucus, Cladosporium herbarum, Fusarium und Botrytis Bassiana; recht gut entwickelt waren: Mucor Boidin = Amylomyces γ (submers, ohne Sporangienbildung) und Penicillium brevicaule; schwach entwickelt: Penicillium glaucum, Isaria farinosa und Aspergillus niger (am schwächsten entwickelt). Alle Pilzkulturen (je 10 ccm der Nährlösung mit vereinzelten Myzelfäden) und die sterilen Kontrollkölbchen wurden an diesem bezw. dem folgenden (14. Versuchstage) mit MgO destilliert und das Destillat in $^n/_{100}$ HCl-Lösung aufgefangen. Penicillium glaucum (obschon ziemlich schwach entwickelt) zeigte einen Säureverbrauch von 2,14 ccm, Fusarium von 1,82 ccm, Botrytis Bassiana von 2,5 ccm, Aspergillus niger (sehr schwach entwickelt) von 0,08 ccm, während die anderen Pilze (darunter weit kräftiger entwickelte, als die eben genannten) und die Kontrollkölbchen nur 0,03—0,04 ccm $^n/_{100}$ HCl verbrauchten[1]). In allen Kölbchen war noch Nitrit vorhanden. Es hatten also in diesem Versuche Penicillium glaucum, Fusarium und Botrytis Bassiana deutliche Ammoniakbildung gezeigt. Zweifelhaft bleibt sie bei dem schwach entwickelten Aspergillus niger.

Nach den bisher mitgeteilten (s. auch d. 1. Mitt.) Untersuchungen kann eine Reduktion von Nitrit zu Ammoniak durch die nachfolgenden Pilze mit Sicherheit erfolgen: Penicillium glaucum, Isaria farinosa, Fusarium (Fusisporium) und Botrytis Bassiana. Nur mit Neßlerschem Reagens wurde sie (in Mannitlösung!) für Phytophthora infestans[2]) nachgewiesen. Bei Aspergillus niger, der sich in Nitrit-

---

[1]) Eine Bestimmung des Pilzgewichtes wurde mit Absicht unterlassen, weil sie nur für manche vergleichende Ernährungsversuche allenfalls einen Wert hat, der übrigens auch noch wegen der großen Fehlergrenze (Größe der Einsaat, Temperaturansprüche, Wasser- und Salzgehalt des Myzels!), die dieser Methode anhaftet, in Zweifel zu ziehen wäre. Die Bezeichnungen „gute Entwicklung und Deckenbildung", „schwache Entwicklung", „Flockenbildung", „keine Entwicklung" sind ungefähr ebenso genau wie die üblichen Pilzgewichtsangaben, die ja doch nur bei großen Gewichtsunterschieden verläßliche Anhaltspunkte geben, bei denen wieder eine besondere Gewichtsbestimmung ziemlich überflüssig erscheint.

[2]) Dieser Pilz ging zugrunde und konnte daher zu den späteren Versuchen nicht mehr herangezogen werden.

nährlösungen bei Zimmertemperatur nur sehr langsam entwickelt, erscheint eine NH_3-Bildung aus Nitrit wahrscheinlich[1]).

Bei den Pilzen: Aspergillus glaucus, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule und Mucor Boidin (der in Nitritnährlösungen meist submers, ohne Sporangienbildung wächst) wurde bisher eine Ammoniakbildung in Nitritnährlösungen nicht beobachtet.

Weitere Mitteilungen werden folgen. Eine Ergänzung zu diesen Befunden bilden die demnächst zur Veröffentlichung gelangenden, von mir und W. Loew ausgeführten quantitativen Untersuchungen über die Nitrat-Assimilation durch Hefen und Schimmelpilze.

Zusammenfassung: Aus den bisher mitgeteilten Versuchen lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Alle von mir untersuchten Schimmelpilze zeigen in Nährlösungen, die Nitrit als alleinige Stickstoffquelle enthalten (manche erst nach längerer Versuchsdauer), gute Entwicklung; sie vermögen Nitrit zu assimilieren.

2. Manche von den untersuchten Schimmelpilzen bilden, aber erst nach längerer Versuchsdauer und inzwischen eingetretener kräftiger Entwicklung, in Nitritnährlösungen Ammoniak. Zu Beginn der Pilzentwicklung läßt sich eine solche Ammoniakbildung (am deutlichsten zeigt sich dies in Nährlösungen mit Mannit als Kohlenstoffquelle) nicht beobachten.

3. Andere gut entwickelte Pilze zeigen auch nach längerer Versuchsdauer (4—6 Wochen) keine Ammoniakbildung in Nitritnährlösungen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß in alten Zuchten (die Fehlerquellen sind in solchem Falle zu beachten) oder bei anderer Versuchsanstellung (besonders günstig zusammengesetzte Spezialnährlösungen für den betreffenden Pilz und Optimaltemperatur) sich auch bei diesen Pilzen Ammoniakbildung wird nachweisen lassen. Bei den betreffenden Pilzen konnte bisher auch mikrochemisch, im Myzel, kein NH_3 nachgewiesen werden.

4. Aus Punkt 2 und 3 kann man folgern:

a) Schimmelpilze können das Nitrit-Ion auch direkt, ohne vorhergehende Ammoniakbildung assimilieren.

---

[1]) Dieser Pilz ist der empfindlichste, besonders gegen Temperaturunterschiede, und in seinem Verhalten überhaupt unregelmäßigste der hier genannten Pilze, weshalb es eigentlich, von seiner leichten Unterscheidung von anderen Pilzen abgesehen, verwunderlich erscheint, daß er so gern zu ernährungsphysiologischen Versuchen, die sich bloß auf ihn beziehen, deren Resultate aber eine Verallgemeinerung finden sollen, herangezogen wird.

b) Das in Nitritnährlösungen entstehende Ammoniak ist wahrscheinlich teils als ein Produkt der erhöhten Reduktionsfähigkeit gut entwickelter (fruktifizierender) älterer Schimmelpilze, teils als ein sekundäres, durch Zersetzung stickstoffhaltiger organischer Substanzen entstehendes Produkt anzusehen[1]).

5. Die Versuche ergeben auch deutlich, daß nur fortgesetzte, zu verschiedenen Zeiten an ein und derselben sich weiter entwickelnden Zucht (event. Parallelzuchten) ausgeführte qualitative und quantitative Untersuchungen über derartige Ernährungsvorgänge der Pilze Aufschluß geben können: vereinzelte qualitative Untersuchungen sind für die Frage der Nitrat- und Nitrit-Assimilation und -Zersetzung durch Pilze (gilt natürlich auch für Bakterien und Hefen!) ziemlich wertlos. Bei der großen Empfindlichkeit der Ammoniakreaktion mit dem Neßlerschen Reagens ist aber ein Ausbleiben der Reaktion wohl ein Beweis für das Nichtvorhandensein von Ammoniak in einer Nährlösung zu einem bestimmten Zeitpunkte.

6. In den oben angeführten, sonst gleich zusammengesetzten Nährlösungen, in denen aber der Nitritzusatz in Wegfall gekommen war, die also keinen besonderen Stickstoffzusatz erhalten hatten, zeigten die zur Kontrolle eingeimpften Schimmelpilze auch nach längerer Zeit (4 bis 6 Wochen) entweder gar keine Entwicklung oder nur eine sehr geringfügige Flockenbildung, die mit der deutlichen Entwicklung in den Nitritnährlösungen (auch bei den schwächstentwickelten Pilzen) nicht zu vergleichen war. Das Wachstum der Schimmelpilze erfolgte also tatsächlich auf Kosten des Nitrits, was übrigens auch durch direkte quantitative Untersuchungen festgestellt wurde[2]).

Herrn W. Loew, der sich auch an den vorliegenden Untersuchungen beteiligt hat, danke ich hierfür bestens.

[1]) Auch die Assimilation des Luftstickstoffs und die Aufnahme der Luftstickstoffverbindungen kommen bei längerer Versuchsdauer in Betracht.

[2]) Hierüber folgt Näheres in der Abhandlung über Nitrat-Assimilation durch Hefen und Schimmelpilze.

Das Verhalten einiger Saccharomyzeten (Hefen) zu Inulin.

Von **V. Grafe** (Wien) und **V. Vouk** (Agram).

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. Universität in Wien.)

Verhältnismäßig wenige höhere Pflanzen verfügen über das der so verbreiteten Amylase analoge Enzym Inulase, welches Inulin zu Lävulose abbaut, nämlich jene, in denen, wie beispielsweise in manchen Kompositen, Inulin als Reservestoff vorliegt. Inulasepräparate konnten daher von A. L. Dean[1]) aus Knollen von Helianthus tuberosus dargestellt werden. Verbreiteter ist dieses Enzym im Organismus der Pilze und Bakterien, was schon daraus hervorgeht, daß Wurzeln oder Knollen inulinführender Pflanzen von niederen Organismen beim Lagern befallen und ihrer Reservestoffe schließlich vollkommen beraubt werden. Besonders Aspergillus niger und Penicillium glaucum wurden reich an Inulase befunden. Da sich unter den Befallsorganismen, die wir an faulenden Wurzeln von Cichorium Intybus studierten, auch immer Hefen fanden, war es von Interesse, nachzuprüfen, ob Saccharomyzeten nicht nur imstande sind wie die Schimmelpilze, Inulin zu spalten und zu assimilieren, sondern auch zu vergären. Denn die ausgedehnten Versuche von P. Lindner[2]) haben ergeben, daß gärfähiger Zucker durchaus nicht assimiliert zu werden braucht und daß anderseits Zucker, der assimiliert werden kann, nicht auch vergoren werden muß. Zunächst wurde das Verhalten der Hefen in einer normalen Nährlösung geprüft, der reines Inulin zugefügt worden war. Die Kulturflüssigkeit enthielt: 9,1 g K_2HPO_4, 4,2 g $MgSO_4$, 10 g Pepton, 2000 g Wasser, 10 g Inulin. Das Inulin wurde in der Wärme zur Auflösung gebracht, indessen fiel ein Teil beim Abkühlen wieder aus, während der Rest durch die vor-

---

[1]) A. L. Dean, Botanic. Gazette, Bd. 35, 1903, S. 24.

[2]) P. Lindner, Wochenschr. f. Brauerei, Bd. 28, 1911, S. 61.

handenen Salze in Lösung gehalten wurde; in der abgekühlten Lösung ergab die Analyse das Vorhandensein von 0,32 % Inulin.

I. Versuchsreihe

vom 16. März 1913.

Hefeart	Kontrolle 26. März	Analyse am	Inulingehalt nach dem Versuch	Inulin verbraucht
Sacch. anomalus . . .	gut entwickelt	27. März	0,32	keines
„ ellipsoideus . .	schwach entwickelt	27. „	0,216	32,5 %
„ Logos	sehr schwach, am Boden des Kolbens liegend	28. „	0,28	12,5 %
Monilia candida . . .	mäßig entwickelt	28. „	0,288	3,7 %
Sacch. Johannisberg . .	schwach entwickelt	30. „	0,245	23,4 %
„ cartilaginosus . .	schwach entwickelt	30. „	0,225	30,0 %
„ turbidans . . .	gut entwickelt	30. „	0,342 (?)	keines
„ capsularis . . .	schwach entwickelt	1. April	0,32	keines
Pichia membranaefaciens	sehr schwach entwickelt	1. „	0,342 (?)	keines
Sacch. validus	schwach entwickelt	1. „	0,32	keines
Zygomyces priorianus .	sehr schwach entwickelt	2. „	0,32	keines

Aus dieser Zusammenstellung ist zu ersehen, daß sich die verschiedenen Hefearten dem Inulin gegenüber sehr verschieden verhalten, daß offenbar die einen über Inulase verfügen und sich darin der „Kojihefe“ (Asperg. Oryzae) analog verhalten, welche infolge des Besitzes von Amylase Reisstärke abzubauen und den gebildeten Zucker zu vergären vermag, die anderen nicht. Es ist ferner auffallend, daß im Durchschnitt diejenigen, welche Inulin vergären, schlechte Entwicklung, d. h. geringen Ansatz aufweisen, während die Inulin nicht vergärenden dieses Polysaccharid offenbar zu assimilieren vermögen. Vielleicht ist in manchen Fällen auch das Vorhandensein des sekundären Phosphates in der Nährlösung an der unvollkommenen Wirksamkeit der Inulase schuld, welche nach Dean am besten bei Anwesenheit schwacher H-Ionen arbeitet, während sie durch OH-Ionen schon stark gehemmt wird. Mit Rücksicht darauf wurde auch das sekundäre Phosphat für die Nährlösung gewählt, welches am beständigsten neutral ist und gegen Phenolphthalein auch neutral, gegen Lackmus aber immerhin schon alkalisch reagiert. Immerhin war es wünschenswert, die Versuche mit einer größeren Reihe von Hefearten anzustellen. Die Bestimmung von Lävulose und Inulin erfolgte nach der bereits in unseren früheren

Mitteilungen[1]) geschilderten Methode. Die Alkoholbestimmung wurde zunächst qualitativ nach Müntz[2]) und dann quantitativ durch Bestimmung des spezifischen Gewichts ausgeführt. Der Kolben mit der zu analysierenden Lösung wurde erhitzt, um etwa ausgefallenes Inulin in Lösung zu bringen, heiß filtriert, der Niederschlag mit heißem Wasser gewaschen (die Erwärmung wurde natürlich niemals bis zum Siedepunkte des Alkohols getrieben. In späteren Versuchen wurde, ohne von der Hefe abzufiltrieren, direkt aus dem Kolben abdestilliert, wobei durch geeignete Vorlagen ein Überspritzen durch Schäumen vermieden wurde) und das blanke Filtrat der Destillation unterworfen. Es wurden $^2/_3$ der Flüssigkeit abdestilliert, die zurückgebliebene Flüssigkeit zur Inulinbestimmung benutzt, das Destillat von neuem destilliert usf., bis auf 50 ccm, mit denen das Pyknometer beschickt wurde. Nach Berechnung des spezifischen Gewichtes im Destillate konnte aus den Hehnerschen Tabellen direkt der Alkoholgehalt abgelesen werden.

II. Versuchsreihe[3]).

Inulin-Nährlösung wie in der Versuchsreihe I. Aus der Reinkultur geimpft am 31. Mai 1913 und in einem Thermostaten bei 20—22° C aufgestellt. 23 Kölbchen zu 200 ccm Nährlösung[4]).

(Siehe die Tabelle auf Seite 330.)

In dieser Versuchsreihe, in der die Kulturen über längere Zeit ausgedehnt wurden, erscheinen die meisten der geprüften Hefearten als Verbraucher von Inulin, manche verarbeiten dieses Polysaccharid sogar in ganz erheblichem Maße, wie namentlich Schwanniomyces occidentalis, die schon P. Lindner als Inulinvergärer bezeichnet, ferner Torulaspora Delbrückii, Saccharomyces marxianus und Willia saturnia. Bei manchen ist es sicherlich auch eine geringere Widerstandsfähigkeit gegen den gebildeten Alkohol, welche der Vergärung des Zuckers ein Ziel setzt, und eine Weitervergärung ließe sich hier durch

---

[1]) Grafe und Vouk, Untersuchungen über den Inulinstoffwechsel bei Cichorium Intybus L. (Cichorie). Biochem. Zeitschr. Bd. 43, S. 424, Bd. 47, S. 320, Bd. 56, S. 249.

[2]) A. Müntz, Annal. de chimie et de phys. (5 sér.) T. 13, 1878, S. 543, nach W. Palladin in Abderhaldens Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden, II, S. 509.

[3]) Die Hefereinkulturen bezogen wir von der Allgem. Versuchsstation f. Brauerei, Wien; wir möchten unserem verehrten Kollegen, Herrn Professor Dr. H. Zikes, für die besondere Sorgfalt danken, mit der die Reinkulturen für uns hergestellt wurden.

[4]) Diese Versuchsreihe wurde im botanisch-physiologischen Institut der Universität in Agram durchgeführt.

(Tabelle zu Seite 329.)

Hefeart	Entwicklung nach 10 Tagen	Entwicklung nach Tagen	Inulingehalt vorher g	Inulingehalt nachher g	Verbrauch in Proz.
Willia anomala	sehr gut	17; sehr gut	0,612	0,576	5,8
Sacch. marxianus . . .	„	19; „	0,612	0,140	77,1
Schwanniomyces occident.	gut	20; „	0,648	0,101	84,4
Debaryomyces globosus .	„	20; gut	0,648	0,450	30,6
Willia saturnia	sehr gut	21; sehr gut	0,648	0,162	75,0
Pichia halospora	sehr schwach	35; sehr schwach	0,648	0,648	keines
Schizosaccharom. Pombe .	schwach	21; schwach	0,648	0,520	20,0
Willia II	gut	23; gut	0,612	0,432	29,4
Saccharom. intermedia . .	schwach	23; schwach	0,612	0,486	20,6
Hansenia vini	sehr schwach	24; sehr schwach	0,612	0,522	1,5
Schizosaccharom. mellacei .	schwach	26; gut	0,648	0,316	51,2
Zygosaccharom. Barkeri .	„	30; sehr schwach	0,648	0,612	5,5
Willia I	sehr schwach	30; „	0,648	0,636	1,9
Torula alba	sehr gut	30; sehr gut	0,612	0,612	keines
Torulaspora Delbrückii .	gut	33; „	0,612	0,126	80,0
Saccharom. thermantitonum	schwach	33; gut	0,648	0,594	8,3
Pichia farinosa	gut; am Boden	33; „	0,612	0,612	keines
Oidum Ludwigii	schwach	33; schwach	0,612	0,522	1,4
Saccharom. glutinia . . .	gut	33; gut	0,648	0,594	0,9
Mycoderma rubra . . .	sehr schwach	35; sehr schwach	0,648	0,648	keines
Sacch. Kefyr	gut	35; gut	0,648	0,162	75,0
Sacch. ilicis	sehr schwach	35; sehr schwach	0,648	0,594	8,3
Blastoderma salminicolor .	„	35; „	0,648	0,630	2,8

Abdestillieren des Alkohols und neue Hefeeinsaat bewirken. Assimiliert scheint in dieser Versuchsreihe nur von einzelnen Hefen Inulin worden zu sein; in manchen Fällen tritt immerhin Entwicklung, wenn auch keine besondere, ein, obzwar kein Inulin verbraucht wurde, vielleicht geschieht das in diesen Fällen auf Kosten der in den Hefezellen enthaltenen Reservestoffe; im allgemeinen sieht man aber dort, wo kein Inulin verbraucht wird, auch kaum eine Entwicklung. Dagegen fand in der nächstmitgeteilten Versuchsreihe eine beträchtliche Verwendung des Inulins im Baustoffwechsel der Hefe statt, worauf einmal die üppige Vermehrung mancher Arten ohne gleichzeitig stattfindende starke Gärung und zweitens die verarbeiteten Inulinmengen hindeuten, die bei weitem die Mengen Inulin übertreffen, welche dem gebildeten Alkohol äquivalent wären. Zu diesen Versuchen wurden keine künstlichen Kulturlösungen

verwendet, sondern Zichorienextrakte. 300 g getrocknetes Zichorienpulver wurde mit 2000 ccm in der Hitze extrahiert, entsprechend verdünnt und je 500 ccm in einen Erlenmeyerkolben gegeben. Nachdem die ganze Reihe der Kolben aufgestellt war, wurden aus jedem Kolben je 100 ccm abpipettiert, mit Bleiazetat das Eiweiß und die färbenden Substanzen gefällt, im Filtrate das Blei durch die äquivalente Menge verdünnter Schwefelsäure entfernt und in einem aliquoten Teile des Filtrates vom Bleisulfat reduzierender Zucker und Inulin bestimmt. Die Kolben mit der restlichen Flüssigkeit wurden im Dampftopf sterilisiert, in üblicher Weise mit der betreffenden Hefe geimpft und im Thermostaten bei 26° C aufgestellt. Nach Ablauf des 14tägigen Gärungsversuches wurde der Alkohol in der oben beschriebenen Weise und im Rückstande Lävulose und Inulin bestimmt.

III. Versuchsreihe.

Kolben mit je 400 ccm Zichorienextrakt sterilisiert, am 17. März 1913 geimpft und bei 26° C im Thermostaten aufgestellt.

Hefeart	Kontrolle 26. III.		Vor dem Versuch		Nach dem Versuch		Alkohol	
	Entwicklung	Gärung	reduz. Zucker	Inulin	reduz. Zucker	Inulin	Vol.-Proz.	Gew.-Proz.
Sacch. Johannisberg	gute	starke	2,952	6,920	1,26	0,936	1,27	1,01
„ Frohberg	„	„	2,952	6,920	0,70	1,800	3,07	2,45
„ anomalus	starke	schwache	2,952	6,920	2,252	3,860	1,41	1,12
„ Carlsberg	schwache	„	2,952	6,920	0,750	3,150	2,09	1,67
„ Logos	„	„	2,952	6,920	1,350	2,385	5,78	4,63
„ Ludwigii	gute	„	1,588	6,120	1,138	4,275	0,93	0,74
„ turbidans	„	mäßige	2,952	6,92	2,050	2,565	6,16	4,94
Pichia membranaefaciens	„	schwache	2,952	6,92	2,250	6,920	2,65	2,11
Mycoderma	„	sehr schwache	2,952	6,92	2,750	3,280	1,20	0,96
Sacch. exiguus	schwache	keine	2,952	6,92	0,600	5,850	—	—
Monilia candida	starke	sehr schwache	2,952	6,92	0,800	5,400	3,28	2,62
Zygomyces priorianus	gute	sehr schwache	2,952	6,92	0,600	7,100(?)	1,34	1,06
Sacch. Saaz	„	schwache	1,588	6,12	0,250	3,185	4,58	3,66
Schizosacch. Pombe	„	starke	3,280	4,104	2,296	2,2832	10,38	8,36
Schwanniomyces occid.	„	sehr schwache	3,280	4,104	1,640	4,104	—	—

Verarbeitet wurde in Prozenten von Lävulose und Inulin:

	reduz. Zucker	Inulin		reduz. Zucker	Inulin
Sacch. Johannisberg . .	57,3	86,47	Monilia candida . . .	73,0	22,0
„ Carlsberg	74,6	54,4	Schizosacch. Pombe . .	70,0	80,0
„ turbidans	30,5	62,9	Sacch. anomalus . . .	23,7	44,2
„ exiguus	73,0	15,5	„ Ludwigii . . .	28,3	30,1
„ Saaz	84,3	47,8	„ Mycoderma . . .	6,1	52,6
„ Frohberg	76,3	74,0	Zygomyces priorianus .	79,6	—
„ Logos	54,3	65,5	Schwanniomyces occid. .	50,0	100,0
Pichia membranaefaciens .	24,0	—			

Wenn es in der Rubrik „Gärung" heißt „schwach, stark" o. dgl., so bezieht sich das auf die Entwicklung von Gasblasen, aber es sagt eigentlich nichts über die Zerlegungsintensität des Zuckers aus; das geht am deutlichsten aus dem Befunde an Schwanniomyces occident. hervor, bei welchem 80 % des reduzierenden Zuckers und sämtliches Inulin verarbeitet befunden wurde, trotzdem aber keine nennenswerte Kohlendioxyd-Entwicklung auftrat. Daß dabei andere Gärungsprodukte als Alkohol und Kohlendioxyd gebildet werden, geht schon aus dem Umstande hervor, daß bei Schwanniomyces trotz des enormen Kohlehydratverbrauches kein Alkohol gefunden wurde. Ferner aus der Tatsache, daß der Inhalt der Gärungskolben durchaus nicht immer weinige, sondern sehr verschiedene Gerüche aufwies, unangenehm faulig bei Willia anomala, eigenartig nach basischen Benzolderivaten bei Oidium Ludwigii, nach Azeton bei Pichia membranaefaciens usw.; obzwar, wie erwähnt, mit Reinzuchthefen gearbeitet und eine Fremdinfektion ausgeschlossen war. Immerhin sehen wir auch in dieser Versuchsreihe — wir möchten die Resultate als vorläufige betrachtet wissen, die nach verschiedener Richtung noch ergänzt werden sollen — bei manchen Hefen wie Sacch. Saaz, turbidans und Logos eine nennenswerte Alkoholbildung eintreten, die sicherlich auf die Verarbeitung von Inulin zurückzuführen ist, das im Gärgute der genannten Arten zu 47,8 bis 65,5 % verschwindet. In anderen Fällen wie bei Schwanniomyces und Sacch. Johannisberg geht der Inulinverbrauch nicht mit der Alkoholbildung parallel, sondern ist wohl auf die Entstehung anderer Gärprodukte oder auf vollständige Verbrennung zurückzuführen, vielleicht, weil diese Hefearten im Gegensatz zu anderen Saccharomyzeten über ein größeres Arsenal von Oxydasen verfügen. Auf alle Fälle scheint es nicht gleichgültig, ob die Vergärung in künstlicher Nährlösung oder

in natürlichen Preßsäften erfolgt, wohl weil hier infolge Vorhandenseins von reduzierendem Zucker, spezifischen Eiweißstoffen u. dergl. besondere Anstöße nach der Richtung der Gärung oder der Entwicklung gegeben werden, wie überhaupt das gebotene Milieu von bestimmendem Einflusse qualitativ und quantitativ auf die Verfolgung dieser oder jener Tendenz der Hefearbeit wirken dürfte.

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, daß die Vergärung und der Verbrauch von Inulin ein komplizierter Prozeß ist, bei dem nicht nur die Gegenwart des Inulins, sondern auch das übrige Milieu der Gärflüssigkeit, im besondern das Vorhandensein des hydrolssierten Produktes, eine Rolle zu spielen scheint. Wenigstens sehen wir in den Versuchen mit reiner Inulinnährlösung nur in einzelnen Fällen ein Verschwinden von Inulin, während in Zichorienextrakten, resp. überhaupt in natürlichen Pflanzenextrakten, in welchen u. a. auch Lävulose zugegen ist, die Verarbeitung des Inulins durch die meisten Hefen in erheblicher Weise vor sich geht. Wir halten dafür, daß durch unsere Versuche die nach dem Kleingärverfahren von P. Lindner gewonnenen Ergebnisse nach mancher Richtung hin ergänzt worden sind, da von dem genannten Forscher überhaupt nur die Gasentwicklung als qualitatives Kriterium herbeigezogen wurde, während wir durch quantitative Bestimmungen von Zucker und Alkohol gewisse von den untersuchten Hefen als typische Inulinverarbeiter charakterisieren konnten.

Auch bei den vorliegenden Untersuchungen hatten wir uns ebenso wie bei unseren Arbeiten über den Inulinstoffwechsel der Zichorie des weitgehenden Entgegenkommens der Herren Heinr. Franck Söhne, Linz, zu erfreuen, wofür wir der genannten Firma auch an dieser Stelle unsern verbindlichsten Dank ausdrücken möchten.

Referate.

Barker, B. T. P. Further Observations on Cider Sickness. Journal of the Instit. of Brewing. Vol. XIX, 1913, S. 58—73.

Die unter dem Namen „Ciderkrankheit“ bekannte Erscheinung zeigt einen ziemlich verschiedenen Verlauf, was die Ermittlung ihrer Ursachen bedeutend erschwert hat. Die Krankheit wird jetzt hauptsächlich auf einen bestimmten Mikroorganismus zurückgeführt. Die typischen Merkmale derselben werden wie folgt beschrieben. Zuerst zeigt der Cider eine Schaumdecke; kurz danach tritt plötzlich eine reichliche Gasentwicklung ein, und der süße Geschmack verliert sich. Fast gleichzeitig mit diesem Gärungsbeginn verändern sich das Aroma und der Geschmack: sie werden unangenehm scharf; der angenehme obstartige Charakter des Getränks geht verloren, und dasselbe fängt bald an trübe zu werden. Es kann jedoch von den angegebenen Krankheitssymptomen bald dieses bald jenes fehlen: die Gärung kann unterbleiben, Geschmack und Aroma können sich unverändert halten, und selbst die Trübung kann ausbleiben.

Verf. beschreibt näher die sich abspielenden chemischen Vorgänge. In dieser Beziehung ist namentlich zu bemerken, daß der Wasserstoffgehalt des entwickelten Gases bis $5^0/_0$ beträgt; im übrigen besteht es aus Kohlensäure. Auch die Ursache der Trübung wird erörtert.

Eine mikroskopische Untersuchung ergibt, daß, wenngleich sowohl lebende als tote Zellen verschiedener Mikroorganismen in der Flüssigkeit schweben, dieselben doch nicht in genügender Menge zugegen sind, um die starke Trübung erklärlich zu machen. Es finden sich auch ölige oder harzähnliche Tröpfchen massenhaft vor, teils einzeln, teils miteinander verbunden. Ihr Aussehen erinnert an Kokken. Was sie eigentlich sind, ist bis jetzt noch nicht festgestellt; sie scheinen zunächst durch die Einwirkung von Aldehyd auf die im Obstwein enthaltenen Gerbstoffe und verwandte Körper hervorgebracht zu werden.

Die Reinzüchtung des eingangs erwähnten Mikroorganismus war mit erheblicher Schwierigkeit verbunden, weil seine Entwicklung weit langsamer vor sich ging, als die verschiedener anderer, ebenfalls vorhandener Organismen; zuletzt gelang es jedoch, ihn zu isolieren, und er erwies sich als eine

kleine bewegliche, fakultativ anaërobe Bakterie, deren Wachstum am besten zwischen 25 und 30° C stattfand; die Minimaltemperatur für die Entwicklung beträgt 10—12° C. Die Zellen werden getötet, wenn man sie fünf Minuten einer Temperatur von 55° C aussetzt.

Des weiteren behandelt Verf. eingehend die Verschiedenheit des Verlaufs, welchen die Krankheit nehmen kann, in Beziehung auf Aroma und Geschmack, Trübung, Krankheitsgeschmack der Äpfel, das durch die Krankheit verursachte Schäumen; endlich schlägt er wirksame Maßregeln zur Abstellung des Übels vor.

Soweit bis jetzt bekannt, hat der Organismus seine eigentliche Heimat auf der Oberfläche der Äpfel, wohin er wahrscheinlich durch den Wind oder durch Insekten gelangt, welche ihn zusammen mit der Hefe dorthin getragen haben. Der Bazillus, welcher ebenso schädlich ist, wie die Hefe nützlich und notwendig, ist demnach wohl eine im Erdboden lebende Art.

Just. Chr. Holm.

Birckner, V. New Glycolytic Ferment of Yeast. Journ. Americ. Chem. Society, Bd. 34, 1912, S. 1213—1229.

Verf. hat in einer kalifornischen Hefe ein Enzym gefunden, welches imstande ist, bei einer hohen Temperatur die Glykose anzugreifen. Diese Hefe („steam beer yeast") ist eine Unterhefe, die Gärung wird aber bei einer hohen Temperatur (von 13 bis 18° C) geführt. Das Enzym kann aus der mit Äthylalkohol behandelten und getrockneten Hefe (Dauerhefe) ausgezogen werden. Wenn man das Enzym bei einer Temperatur von 70° C auf eine Glykoselösung einwirken läßt, nimmt diese eine zuerst rötlichbraune, später aber stark dunkelrote Farbe an und zeigt eine saure Reaktion; es bildet sich ein brauner kohleartiger Niederschlag und ein karamelartiger Geruch. Keine Gasentwicklung. Es entstehen hauptsächlich einige nicht näher bestimmte Säuren; gleichzeitig wird Pentose und Formaldehyd gebildet. Das Enzym (Glukase) ist in einer wässerigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur im sterilen Zustand sehr haltbar; die Wirkung wird durch Kochen nicht beeinflußt. Just. Chr. Holm.

Zschokke. Die Herstellung alkoholfreier Getränke mit Kohlensäure. Schweizer Zeitschrift f. Obst- und Weinbau, 1912, S. 290.

Verf. bespricht die Versuche Böhis, wonach unvergorene Obst- und Traubensäfte, einem Kohlensäuredruck von 6—7 Atm. ausgesetzt, weder in Gärung kommen, noch sonstige stoffliche Veränderungen erleiden. Die Versuche sind bereits von der Praxis aufgenommen worden, welche starke Metallfässer mit indifferentem inneren Überzug verwendet. Die Fässer werden mit dem klaren unvergorenen Saft gefüllt und sofort einem Kohlensäuredruck von 5—7 Atm. ausgesetzt. Die vorhandenen Gärungserreger sterben nach und nach ab. Verf. betont den reinen Geschmack und das Fruchtaroma der den Gefäßen entnommenen Proben. Harff.

Seifert, W. Versuche mit Kohlensäure behufs Verhinderung des Kahmigwerdens. Weinbau und Weinhandel, Bd. 30, 1912, Nr. 37.

Das schon länger empfohlene Verfahren, Zapfweine (Schankweine) durch Einleiten eines kontinuierlichen Kohlensäurestromes auf das sinkende Weinniveau vor dem Kahmigwerden zu schützen, zeigte sich bei der Verwendung einfacher Holzfässer nach den Versuchen als nicht zweckerfüllend, da durch Diffusion durch die Faßporen geringe Mengen Kohlensäure gegen Luft ausgetauscht werden, welche die Entwicklung von Kahmhefen herbeiführt. Die Versuche führten zum Ergebnis, daß nur bei Verwendung paraffinierter Holzfässer und gut schließender Kohlensäure-Leitungen der Zweck vollständig und ökonomisch erreicht wird. Harff.

Wortmann. Über den Einfluß der Temperatur auf den Geruch und Geschmack der Weine. Weinbau und Weinhandel, Bd. 30, 1912, S. 2—5.

Die Geruchs- und Geschmacksprobe des Weines ist wesentlich von der Temperatur für dessen Qualitätsbestimmung abhängig. Verf. gibt ein großes Material über die Komponenten des Weines, aus denen sich die Bouquetstoffe zusammensetzen, und welche den Geschmack bestimmen, in Beziehung auf die dabei einzuhaltende beste Weintemperatur. Er kommt zum Resultat, daß Weißweine sich am vorteilhaftesten bei 11° C, Rotweine bei 16,5° C proben lassen. Verf. hat ein kleines Taschenthermometer anfertigen lassen, auf welchem diese beiden Temperaturen angegeben sind. Harff.

Meißner, R. Versuche über die Verwendung reingezüchteter württembergischer Weinhefen in der Praxis der Schaumweinbereitung. Aus d. VII. Jahresbericht d. k. Württ. Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg.

Die Versuche wurden im Jahre 1909 mit einer größeren Menge Stillwein, der mit fünf württembergischen Hefen und einer Geisenheimer Champagne-Ay-Hefe in der Sektkellerei von Keßler-Eßlingen getrennt geimpft wurde, praktisch durchgeführt. Die württembergische Heferasse Weikersheim A, welche die Flaschengärung am besten durchführte, erwies sich bei der Kostprobe der fertigen Schaumweine in bezug auf Schaumbildung und Kohlensäure-Entwicklung, wie die Champagne-Ay-Hefe, als eine ganz vorzügliche, praktisch brauchbare Rasse. Harff.

Meißner, R. Die Behandlung säurereicher und säurearmer Weine unter besonderer Berücksichtigung des natürlichen Säureabbaues. Deutsche Küfer- u. Kellerei-Ztg., Bd. 9, 1912, S. 14. — **Anweisung für die Behandlung des 1912er.** Ebenda, Bd. 9, 1912, S. 20. — **Über die Behandlung der 1912er württembergischen Weine.** Württ. Wochenbl. f. Landwirtschaft, 1912, S. 711.

Die hohen Säuregehalte neben mittleren und geringen Öchslegewichten der 1912er württemb. Traubensäfte erfordern eine sorgfältige Kellerbehandlung der Säfte und Weine. Verf. empfiehlt das Aufrühren und Lüften der

Hefe unmittelbar nach der Hauptgärung, um die Weinpflanzen zur Säureverzehrung anzuregen und die Ausscheidung der löslichen Eiweißsubstanzen zu begünstigen. Der natürliche Säureabbau ist weiter durch eine erhöhte Kellertemperatur (14—15° C) und durch möglichst späten ersten Abstich, wenn nötig unter Luftabschluß und nur schwaches Einbrennen zu unterstützen, damit die säureverzehrenden Bakterien in ihrer Tätigkeit nicht gehindert werden. Künstlich ist die Säureverminderung der Weine durch eine sachgemäße nasse Zuckerung, durch Zusatz von kohlensaurem Kalk und schließlich durch einen Verschnitt mit anderem Wein zu erreichen. Verf. gibt ausführliche Ratschläge mit Beispielen hierfür im Sinne des Weingesetzes.

Harff.

Fred, E. B. A study on the quantitative reduction of Methylene Blue by bacteria found in milk and the use of this stain in determining the keeping quality of milk. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **35,** 1912, S. 391 bis 428 m. 17 Kurven.

Bei der Prüfung verschiedener Farben (Lakmus, Neutralrot, Fuchsin, Indigokarmin, Methylenblau) fand Verf. von neuem, daß sich die zuletzt genannte für die Reduktionsprobe am besten eignet. Die Lösung war die von Wichern angegebene: 1000 aq. dest., 1 Methylenblau pur. med. Grübler, 8,5 Kochsalz. Je 1 ccm wurde 10 ccm Milch oder Bouillon hinzugefügt. Der Verlauf der Reduktion wurde mit Hilfe der von Wichern ausgearbeiteten Titrationsmethode genau verfolgt. Gleichzeitig wurde die Keimzahl auf Heidenagar ermittelt. Geprüft wurden 22 Reinkulturen: verschiedene Milchsäurebakterien (in den Tabellen gibt es wieder einmal ein arges Durcheinander von Bact. acidi lactici und lactis acidi), Formen aus der Coli-Aerogenes-Gruppe, B. fluorescens, prodigiosus, subtilis, mycoides, mesentericus, Proteus, Bact. denitrificans, Oidium lactis. Bis auf Micrococcus citreus reduzierten alle und zwar in Milch rascher als in Bouillon. Auch die Milchsäurebakterien reduzierten relativ rasch. Die den Verlauf der Reduktion und der Keimvermehrung zeigenden Kurven sind fast gleich. Da aber auch in mit 5% Toluol versetzter Milch, in der das Bakterien-Wachstum unterdrückt war, Reduktion stattfand, handelt es sich nach Verf.s Ansicht um Enzymwirkung. Desgleichen zeigten Versuche in gefärbtem Agar sowie die Reduktion innerhalb eines in die reduzierende Milchkultur eingehängten Kollodiumsackes, daß intra- wie extrazelluläre Produkte an dem Prozeß beteiligt sind.

Löhnis.

Belonowski, G. D. Zur Frage über die Säureproduktion der bulgarischen Milchsäure-Mikroben. Milchw. Zentralbl. **41,** 1912, S. 449—454.

Zugaben von 1—35% Trauben-, Milch- oder Rohrzucker zur Milch verzögerten Säurebildung und Koagulation. Bei Jaourt-Laktobazillen wirkte bereits 1%, bei Milchsäure-Streptokokken erst 5% deutlich hemmend. Ein

Zuckerzusatz ist nützlich, weil er zu intensive Säuerung hindert, die Lebenskraft der Laktobazillen aber nicht beeinträchtigt. Löhnis.

Skar, O. Eine schnelle und genaue Methode für Zählung von Bakterien und Leukozyten. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 454—461.

10 ccm Milch werden im Reagenzglas mit $^4/_{10}$ ccm 2proz. Karbol-Methylenblau rasch vermischt und 5—10 Minuten bei 70° C gehalten. $^1/_{50}$ ccm verteilt man auf einer 20 × 24 mm großen Fläche des Objektträgers möglichst gleichmäßig und zählt nach dem Antrocknen (ohne Fixieren) 10 bis 20 Gesichtsfelder unter Benutzung eines besonderen Okular-Mikrometers (von Zeiß) aus. Saurer Milch ist die erforderliche Menge Natronlauge hinzuzusetzen. Bei der mikroskopischen Zählung, die beim Vergleich mit der (augenscheinlich nicht ganz korrekt gehandhabten) Plattenmethode bis 69-mal so hohe Zahlen lieferte als diese, kann nach Verf.s Vorschlag die Größe der vorhandenen Bakterien und Bakterien-Konglomerate in der Weise in Rechnung gestellt werden, daß als Einheit ein Mikrokokkus von 1 μ Durchmesser angenommen und danach der „berechnete Bakterien-Gehalt“ festgestellt wird. Auch für die Schleuderprobe ist vorheriger Farbzusatz empfehlenswert.

Löhnis.

Gooren, G. L. J. Hygienische Untersuchungen der Handelsmilch. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **35**, 1912, S. 625—646.

Je 10 Proben holländischer „Mustermilch“ (Vorzugsmilch) und sogen. „Reformmilch“ (gewöhnliche Flaschenmilch) wurden in bezug auf chemische Zusammensetzung, Säuregrad, Katalase-, Peroxydase-, Reduktase- und Diastase-Reaktion, Schmutz- und Bakteriengehalt, sowie hinsichtlich der Gefrierpunkts-Erniedrigung untersucht.

Die Katalasezahl war in 10 Fällen abnorm hoch; 9 mal handelte es sich um Milch aus entzündeten Eutern, 1 mal um solche mit abnorm hohem Bakteriengehalt. In 2 Fällen war aber die Katalasezahl normal, obwohl Mastitismilch vorlag. Die Katalaseprobe allein genügt also nicht; die mikroskopische Untersuchung des Sedimentes muß stets hinzutreten. Alle andern Enzymreaktionen gaben bis auf nur einen Fall normale Werte (!); dieser eine (pathologische) Fall war schon durch die mikroskopische Prüfung sichergestellt. Auf dem zuletzt genannten Wege konnte in 3 von den 10 Vorzugsmilchproben und in 8 von den „Reformmilch“proben Mastitismilch nachgewiesen werden. Der Keimgehalt wurde auf Gelatine für die Vorzugsmilch zu 4050—27 900, für die Reformmilch zu 50 100—1 440 000 pro ccm ermittelt. Die Zuverlässigkeit dieser Befunde scheint nicht einwandfrei; u. a. ruft die Angabe, daß stets nur 3—5 verschiedene Arten zur Entwicklung kamen, einige Bedenken wach. Verf. steht aber nicht an, auf Grund seiner 10 (!) Bestimmungen zu fordern, daß die nach dem holländischen Codex alimentarius für „Mustermilch“ zulässige Höchstzahl von 50 000 auf 25 000 pro ccm herabzusetzen sei.

Löhnis.

Wolff, A. Säuerungsbakterien, insonderheit Milchsäurelangstäbchen und Propionsäurebildner in Molkereiprodukten, speziell in den verschiedenen Käsesorten. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **34,** 1912, S. 494—540 mit 18 Textfig.

Aus verschiedenen Käsen (Backstein-, Camembert-, Edamer, Harzer, Gouda- und Tilsiter Käse), sowie aus Milch, Butter, Säurewecker und frischem Labpulver wurden eine größere Zahl Laktobazillen und verschiedene Propionsäurebildner isoliert, die teils den Laktobazillen, teils den Milchsäurestreptokokken nahestehen. Die isolierten Stämme werden ausführlich beschrieben und das Aussehen der Kolonien und der Ausstrichpräparate z. T. im Bilde vorgeführt. Manche der Laktobazillen wuchsen auch noch bei 20⁰ C. Nicht wenige der Kulturen waren durch ein spezifisches Aroma ausgezeichnet. Übergänge nach der Streptokokkengruppe sowie zu den Essigbakterien wurden gelegentlich beobachtet; speziell das „Stäbchen Nr. 20“ scheint eine interessante Zwischenstellung einzunehmen. Für Nr. 22 und 24 wird Eigenbewegung angegeben. Am eingehendsten wurde die Mikroflora des Edamer Käses bearbeitet. Im ganzen wurden in diesem Falle 64 Organismen isoliert, darunter eine Milchzucker vergärende Hefe, ein Säure-Lab-bildender Streptokokkus, ein säurebildender Mikrokokkus sowie 28 Laktobazillen und Propionsäurebildner. Aus gut geformten Augen wurde ein wahrscheinlich mit B. casei γ identischer Stamm gezüchtet, der durch Milchzucker- und (oder?) Laktat-Vergärung für die Augenbildung in dieser Käsesorte von einiger Wichtigkeit zu sein scheint. In altem Labpulver fehlten die Laktobazillen. Milchkulturen der gewöhnlichen Milchsäurestreptokokken wurden noch nach 5 Monaten schwach lebensfähig befunden. Ein Stamm von Bact. Mazun ging zur Schleimbildung über und verwandelte die Milch in einen glasig-gelatinösen Kuchen. Löhnis.

Schnell, E. Die auf Produkten der Landwirtschaft und der landwirtschaftlichen Gewerbe vorkommenden Oospora (Oidium) lactis-Varietäten. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **35,** 1912, S. 1—76 mit 6 Tafeln.

Zirka 100 Stämme wurden unter Verwendung von Bierwürze von Getreide, Heu, Erde, Dünger, aus Stallluft, Milch und Molkereiprodukten, Hefen, Grünmalz, eingesäuerten Gurken usw. angehäuft und auf Würze-Gelatine oder -Agar isoliert. Nach der Kolonieform waren 30 Kulturen deutlich zu unterscheiden. Von den verschiedenen Oidium lactis-Varietäten wird ein Oidium casei als neue Art abgetrennt.

Nach den morphologischen werden die physiologischen Merkmale näher geschildert, speziell die Gelatineverflüssigung, Ammoniakbildung, Lipase-, Katalase- und Zymase-Produktion, Alkohol-Assimilation, Bildung und Verbrauch von Säure (die in Übereinstimmung mit Rullmanns Befunden einander folgen) sowie Licht- und Temperaturempfindlichkeit (Optimum bei 23 bis 28⁰ C). Der Käsestoff der Milch wurde von allen Stämmen, wenn auch

in sehr verschiedenem Grade unter Gelb-Braunfärbung des alkalisch werdenden Serums gelöst, gleichzeitig wurde ein pikanter Käsegeschmack bemerkbar. Das Fett wird stark verändert und es bilden sich zahlreiche Kristallnadeln eines nicht näher bestimmten Eiweißabbauprodukts, Säurekasëin wird rascher zersetzt als Labkasëin, in dem zunächst Säuerung Platz greift. Lebende Kartoffeln sowie Gurken werden erweicht. Die Zellwände werden vom Myzel durchwuchert, Ammoniakbildung ist wahrnehmbar, dagegen wird die Stärke nicht angegriffen. Löhnis.

Harrison, F. C. and Savage, Alfr. The bacterial content of the normal udder. Rev. génér. du lait **9,** 1912, S. 121—131.

Es wird erneut konstatiert, daß die Kuhmilch auch dann in der Regel keimhaltig ist, wenn sie dem sorgfältig desinfizierten Euter mittels sterilisierter Melkröhrchen entzogen wird. Fast ausnahmslos handelt es sich um weiße und gelbe Mikrokokken, die in der Regel harmlos sind und keine erhebliche Einwirkung auf die Qualität der Milch ausüben. In den zuerst entnommenen Milchproben fanden sich z. T. auch andere Arten (Milchsäurebakterien, sporenbildende Bazillen u. a.) Im Drüsengewebe selbst konnten die Mikrokokken gleichfalls nachgewiesen werden, die nach Ansicht der Verff. von der Blutbahn aus in das Euter eintreten. Löhnis.

Golding, J. Yellow discoloration of Stilton cheese. Journ. Board of Agriculture **19,** 1912, S. 177—186 mit 1 Tafel.

Bei zu starkem Salzen entstehen namentlich in Naturlabkäsen nicht selten gelbe, weiche Flecke. Die Azidität bleibt abnorm niedrig, statt der erwünschten Pilze entwickeln sich ungewöhnlich viel Bakterien, unter diesen zahlreiche Tyrosinasebildner. Die fehlerhaften Stellen sind reich an Tyrosin, durch die Tyrosinase wird Dunkelfärbung bewirkt. Löhnis.

Gorini, C. Studien über die rationelle Herstellung des Parmesan- (Grana-) Käses. 3. Bericht. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **36,** 1912, S. 42—53, Milchw. Zentralbl. **41,** 1912, S. 641—650.

Besonders durch die „Associazione Pro Grana" ist die Erkenntnis von dem Nutzen einer einwandfreien Gewinnung und Behandlung der Milch und der Verwendung von Käse-Reifungskulturen in immer weitere Kreise getragen worden. Die Zahl der abgegebenen Kulturen stieg in den Jahren 1906 bis 1911 von 2276 auf 11609 (je 1 Dosis ist für 500 l Milch bestimmt). Außer in der Grana-Käserei sind die Kulturen ebenfalls mit Vorteil bei der Herstellung des Lodisaner, Reggianer, Montasio, Bitto, Branzi und Cacio cavallo benutzt worden. Löhnis.

Clark, W. M. A study of the gases of Emmental cheese. U. S, Dept. Agric. Bur. Anim. Ind. Bull. **151,** 1912, ref. Rev. génér. du lait **9,** S. 279.

Das in den Augen eingeschlossene Gas besteht in der Regel ausschließlich aus CO_2 und N. Nur in geblähten Käsen tritt H aus der Milchzucker-

gärung hinzu. Ein Vergleich der Mengen an CO_2 und Fettsäuren erwies, daß die Propionsäurebakterien allein nicht sämtliches CO_2 gebildet haben können. Nach spezifischen CO_2-Bildnern wird noch gesucht. Löhnis.

Keil, F. Beiträge zur Physiologie der farblosen Schwefelbakterien. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, Bd. 11, 1912, S. 335—372.

An Reinzuchten von Thiothrix und Beggiatoa konnte nachgewiesen werden, daß es sich sicher um rein autotrophe Organismen handelt. Als N-Quelle fungieren Ammonsalze, als C-Quelle allein CO_2. Organische Stoffe können zwar in ziemlich hoher Konzentration zugegen sein, ohne zu schaden; genutzt wird indessen der darin enthaltene Kohlenstoff nicht. Löhnis.

Noack, K. Beiträge zur Biologie der thermophilen Organismen. Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 51, 1912, S. 593—648.

Es wurde speziell das Verhalten von thermophilen Bakterien, Pilzen und deren Sporen gegen subminimale Temperaturen geprüft. Die Schädigung ist bei sporenfreiem Material im allgemeinen recht erheblich. Z. B. starb B. calfactor (im vegetativen Zustande) bei 5—6° C schon nach 16 bis 20 Stunden ab. Eine Herabsetzung des Temperatur-Minimums konnte bei Kultur in Erde (entgegen A. Koch und C. Hoffmann) nicht konstatiert werden. Auf erwärmtem Heu wurde u. a. Anixia spadicea Fuckel angetroffen (Temperatur-Minimum 27°, Maximum 58° C). Löhnis.

Kroulik, A. Über thermophile Zellulosevergärer. Vorläufige Mitteilung. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 36, 1912, S. 339—346.

Entweder wurde Papier direkt mit Erde, Mist, Schlamm usw. in Petrischalen bei 60—65° C aufgestellt oder es wurden zunächst in bekannter Art aërobe und anaërobe Anhäufungskulturen (in modifizierter Omelianski-Lösung) angesetzt. Am raschesten, nach $1^1/_2$—3 Tagen, trat die Zersetzung unter aëroben Bedingungen bei Verwendung von Stallmist, Fäces, Komposterde und dergl. ein. Anaërob verlief der Prozeß etwas langsamer, doch vollständiger. Trotz reichlicher Überimpfung versagten die folgenden Kulturen nicht selten gänzlich[1]). Reinzuchten der Zellulosezersetzer konnten nicht erhalten werden, doch gelang es Verf. unter anaëroben Bedingungen zu ziemlich reinen Kulturen zu kommen. Sowohl die thermophilen Zellulosezersetzer wie die Begleitbakterien bilden Sporen. Das Temperaturoptimum wurde bei 55—60° gefunden, das Maximum bei 68°, das Minimum bei 30° C. Aërob entstand neben Ameisen-, Essig- und Buttersäure nur CO_2, anaërob außerdem H, kein CH_4. Die Rohkulturen der Zellulosezersetzer vergoren auch Glukose sehr lebhaft. Aërob wurde das Papier gewöhnlich gelb gefärbt, anaërob blieb es farblos. Löhnis.

---

[1]) Weit zweckmäßiger und auch den natürlichen Verhältnissen besser angepaßt ist es, statt überzuimpfen, nur die Lösung wiederholt zu erneuern und nach Bedarf von neuem Zellulose hinzuzufügen. Man kommt so zu sehr aktiven Rohkulturen. Ref.

Kendall, A. J. and Farmer, Ch. J. Studies in bacterial metabolism. VII. Journ. Biol. Chem., Vol. 13, 1912, p. 63—70, w. 9 curves.

Verff. prüften Ammoniak-, Alkali- und Säureproduktion in Bouillon- und in Zuckerbouillon-Kulturen von B. proteus, coli, paratyphus, typhosus, alcaligenes, Vibrio H. 61, Microc. aureus und Streptococcus Nr. 34. Dextrose-Gegenwart hemmte die Ammoniakbildung meist deutlich. Ohne Zucker wurde die Reaktion in der Regel alkalisch, mit Zucker sauer. Nur B. alcaligenes und Vibrio H. bildeten stets Alkali, Streptococcus Nr. 34 stets Säure.

Löhnis.

Thöni, J. und Thaysen, A. C. Micrococcus mucofaciens, ein Milchschädling. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 36, 1913, S. 359—365.

Der Gelatine sehr langsam verflüssigende, Milch schwach säuernde und peptonisierende, gelbliche Micrococcus wurde aus fadenziehender Milch isoliert. Er macht speziell den Rahm sehr schleimig: die infizierte Milch ist nicht gesundheitsschädlich. Die morphologischen und kulturellen Merkmale werden ausführlich mitgeteilt. Löhnis.

Gminder, A. Untersuchungen über Mastitis-Streptokokken und ihre Differenzierung von saprophytischen Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 63, 1912, S. 152—193.

Der Befund bei der Trommsdorff-Probe ist nur dann entscheidend, wenn die Milchprobe aseptisch entnommen und das Zentrifugat mikroskopisch untersucht wurde. Bei nicht aseptisch gewonnener Milch ist keine sichere Entscheidung möglich, da weder die mikroskopische noch die kulturelle Prüfung noch auch der Impfversuch eine einwandfreie Differenzierung der Streptokokken verschiedener Herkunft gestatten. Speziell können auch die Milchsäure-Streptokokken die sog. „Staketform" annehmen. Wahrscheinlich sind alle Streptokokken imstande, Mastitis hervorzurufen, wenn sie in genügender Zahl in das Euter gelangen, und dieses ihnen (bei Frisch-Milchendsein, fieberhafter Schwächung usw.) einen geeigneten Aufenthaltsort bietet. Namentlich gilt dies in bezug auf die weitverbreiteten Colpitis-Streptokokken.

Löhnis.

Budinow, L. Zur Physiologie des Bacterium lactis acidi. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 34, 1912, S. 177—187.

Sowohl die Säurebildung wie der Zuckerverbrauch waren in Milch erst nach 6 Stunden nachweisbar. Nach 18 Stunden begann die Zahl der Milchsäurebakterien zu sinken, die Säure nahm weiter zu. Zirka 2 % des umgesetzten Zuckers kam bei der Titration nicht als Säure zum Vorschein. Bei 28—32° C starben sämtliche Bakterien in 9—15 Tagen ab, bei 12—21° fand innerhalb 30 Tagen ein starker Rückgang statt, bei 0 bis — 17° C war in dieser Zeit keine Abnahme wahrnehmbar. Gefrieren und Auftauen schadet nichts. Löhnis.

Register der Personennamen.

(Die Literaturliste auf Seite 272 wurde nicht miteinbezogen.)

Alphabetisches Sachregister.

(Die Literaturliste auf Seite 272 wurde nicht miteinbezogen.)

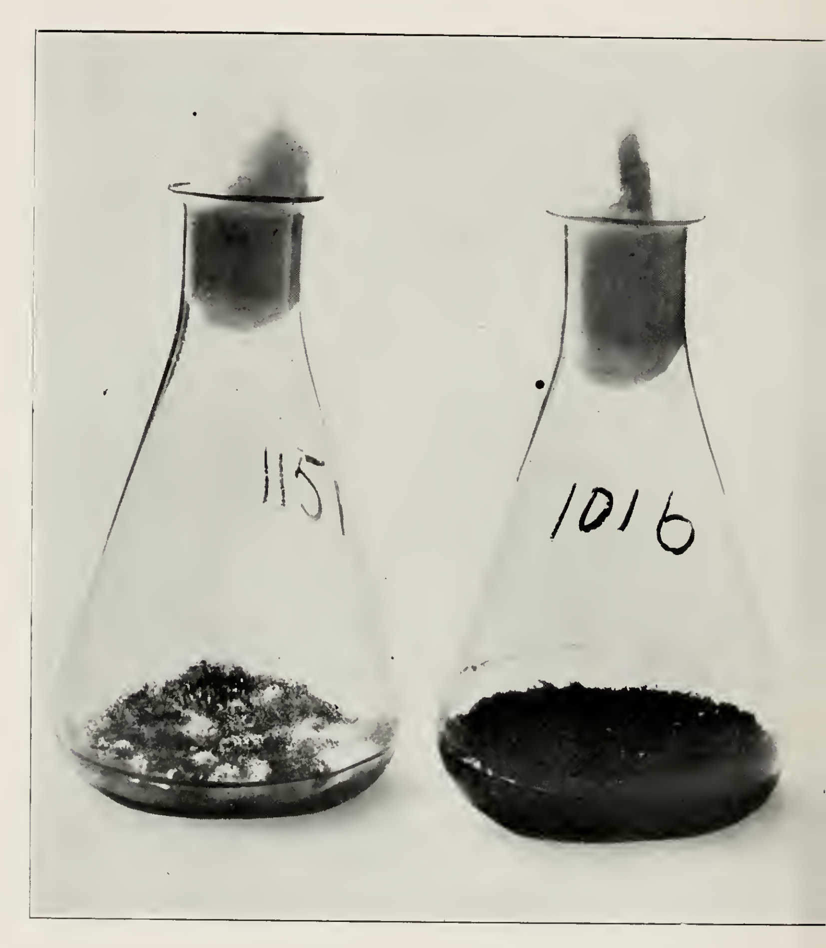


Fig. II A (2 % Galaktose). Fig. II B (2 % Glukose).

H. J. Waterman

Tafel I

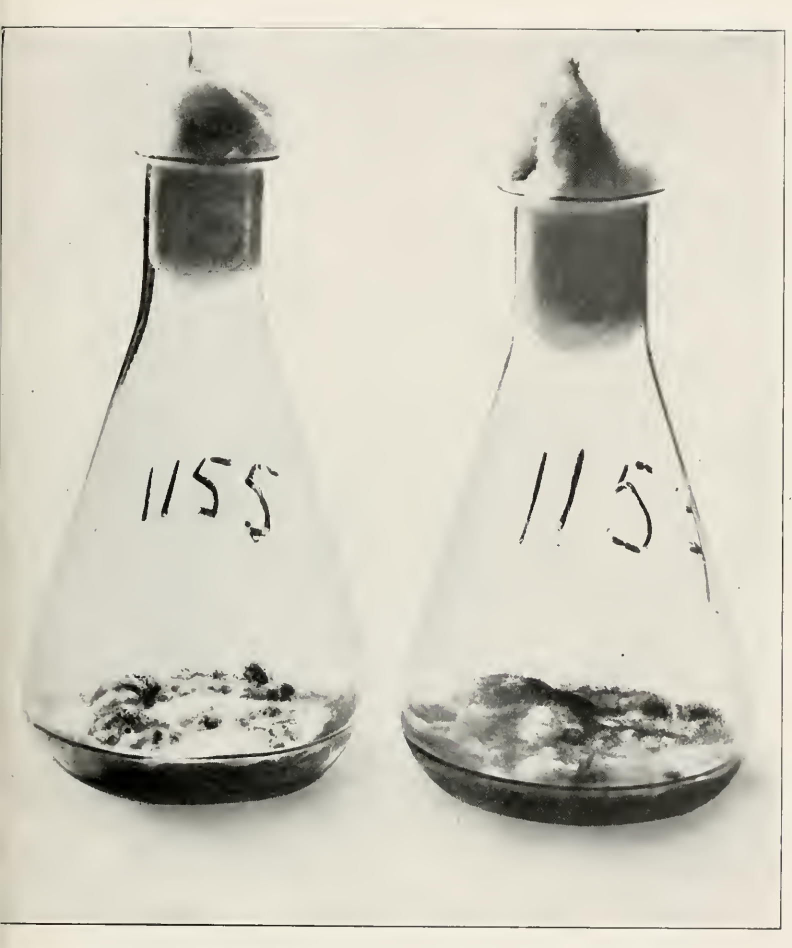


Fig. II C (2 % Galaktose). Fig. II D (2 % Galaktose).


New York Botanical Garden Library
3 5185 00267 3687

Carnegie Mellon University Libraries
3 8482 00871 6728